Aus der Abteilung für Zahnärztliche Chirurgie / Oralchirurgie
(Leiter: Prof.Dr.med.dent. P. Reichart)
der Polikliniken für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde -Nord-
des Fachbereiches für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

Immunhistochemische Verteilung von Kollagen Typ IV, V und VI, Prokollagen Typ III, Laminin, Fibronectin und Undulin beim oralen Lichen planus

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Hartmut Böhm
aus Backnang

1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549614_0064

Aus der Abteilung für Zahnärztliche Chirurgie / Oralchirurgie

(Leiter: Prof. Dr. med. dent. P. Reichart)

der Polikliniken für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde -Nord-

des Fachbereiches für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

der Freien Universität Berlin

Immunhistochemische Verteilung von Kollagen Typ IV, V und VI, Prokollagen Typ III, Laminin, Fibronectin und Undulin beim oralen Lichen planus

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Hartmut Böhm

aus Backnang

Referent: Prof. Dr. P. Reichart

Korreferent: Prof. Dr. Dr. D. Herrmann

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 27. 11. 1986

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	7
1. 1.	Oraler Lichen planus	7
1. 2.	Pathologie und Histopathologie des oralen Lichen planus	10
1. 3.	Aufbau und Struktur der extrazellulären Bindegewebsbestandteile	12
1. 4.	Aufbau und Funktion der Basalmembran	16
2.	Fragestellung	20
3.	Material und Methode	21
3. 1.	Patientengut	21
3. 2.	Histologische Färbung	21
3. 3.	Herstellung der Immunreagenzien	22
3. 3. 1.	Präparation der Antigene	22
3. 3. 2.	Herstellung der Antiseren	23
3. 3. 3.	Herstellung typspezifischer Antikörper	24
3. 4.	Reagenzien	24
3. 4. 1.	Konjugate	24
3. 4. 2.	Puffer, Sonstiges	25
3. 5.	Indirekte Immunfluoreszenz	25
3. 6.	Optische Systeme	26

Seite

4. Ergebnisse 27

4. 1. Lichtmikroskopie (H & E - Färbung) 27

4. 2. Antikörper gegen Basalmembranproteine 27

4. 3. Antikörper gegen Prokollagen Typ III 30

4. 4. Antikörper gegen Kollagen Typ V 31

4. 5. Antikörper gegen Kollagen Typ VI 31

4. 6. Antikörper gegen Gewebsfibronectin 32

4. 7. Antikörper gegen Undulin 33

5. Diskussion 35

6. Zusammenfassung 43

7. Literaturverzeichnis 64

1. EINLEITUNG

1. 1. Oraler Lichen planus

Das Krankheitsbild des Lichen planus (L. p.) kann an der Haut und an Schleimhäuten auftreten. Erstmalig von Wilson (1869) beschrieben, zeigt der L.p. in über 50 % der Fälle eine orale Beteiligung (Shklar & McCarthy, 1961). Bei etwa 25 % der Patienten wird ein isolierter oraler L. p. beobachtet (Hornstein et al., 1980). Das klinische Bild des oralen L. p. ist sehr vielfältig und wechselhaft. Sowohl auf der Haut, als auch auf der Schleimhaut gilt die Einzelpapel als Primäreffloreszenz (Bork et al., 1984), die durch vielfaches Auftreten verschiedene Veränderungen hervorruft, welche mit retikulären, atrophisch-erosiven, ulcerativen oder bullösen Läsionen einhergehen können (Shklar, 1972).

Hauptlokalisation des oralen L. p. ist die Wangenschleimhaut, die in über 90 % der Fälle betroffen ist (Andreasen, 1968 a; Murti et al., 1986). Mit abnehmender Häufigkeit folgen Zunge, Gaumen, Zahnfleisch und Lippen. Meist treten die Veränderungen symmetrisch auf (Cooke, 1954; Herrmann, 1963; McClatchey et al., 1975). Frauen erkranken häufiger. Der Anteil weiblicher Patienten wird von vielen Autoren mit 60 % und mehr angegeben (Cooke, 1954; Tyldesley, 1974, Neumann-Jensen et al., 1977; Lacy et al., 1983; Sklavounou & Laskaris, 1983). Der L. p. wird als eine Krankheit des mittleren Lebensalters angesehen. Sowohl beim isolierten oralen L. p., als auch in Fällen mit Hautbeteiligung wird angegeben, daß Frauen vor allem im 6. und Männer im 5. Dezennium erkranken (Herrmann, 1963; Andreasen, 1968 a).

Der Anteil der Patienten mit L. p. am Gesamtpatientengut beträgt in einer Zahnklinik 0,5 % (Shklar, 1972) und in einer dermatologischen Klinik 0,8 % (Hornstein et al., 1980).

Die Veränderungen beim oralen L. p. können Rauhigkeit, leichtes Brennen oder sogar Schmerzen verursachen. Ein Juckreiz im Munde fehlt (Hermann, 1962,

1963; Bork et al., 1984). Knapp ein Drittel der Patienten sind jedoch symptomfrei und werden durch zahnärztliche Routineuntersuchung oder eigene Beobachtung als Zufallsbefund entdeckt (Tyldesley, 1974; Lacy et al., 1983). Der orale L. p. wird medizinisch als eine harmlose, für den Patienten bisweilen jedoch recht unangenehme Erkrankung angesehen, die oft spontan abheilt (Herrmann, 1963; Andreasen, 1968 a). In der Literatur finden sich aber auch Angaben über maligne Transformation, die 1 - 4 % betragen soll (Löning, 1984). Silverman & Griffith (1974) berichten von fünf oralen Karzinomen, die sie im Rahmen von 200 L. p.-Fällen diagnostizierten, was 2,5 % entspricht. Demgegenüber konnten Murti et al., (1986) die an 702 Personen mit oralem L. p. eine Langzeitstudie durchführten, nur bei 0,4 % der Patienten eine Karzinombildung beobachten.

Ätiologie und Pathogenese des L. p. sind bis heute nicht geklärt. Ätiologisch wurden Viren, Arzneimittel und psychogene Faktoren diskutiert (Black, 1972; Soames & Southam, 1985). Unklar ist auch die Lokalisation eines möglicherweise ursächlichen Antigens. Tyldesley (1974) äußerte die Vermutung, daß der L. p. eine mesodermale Erkrankung sei, die unspezifische epitheliale Veränderungen hervorrufe. Demgegenüber hielten es Shklar et al. (1978) für möglich, daß veränderte desmosomale Strukturen des Epithels immunogenen Charakter bekommen und so als Antigene eine Autoimmunreaktion hervorrufen könnten.

Hinsichtlich der Pathogenese konzentrieren sich die Forschungen der letzten Jahre vor allem auf immunpathologische Mechanismen im Sinne einer zellvermittelten Immunreaktion vom verzögerten Typ (Becker et al., 1983 a; Scully & El-Kom, 1985). Das typisch bandartige, entzündliche Infiltrat beim oralen L. p. setzt sich vor allem aus T-Lymphozyten, Makrophagen und Langerhanszellen zusammen (Becker et al., 1985 a). Die T-Lymphozyten befinden sich überwiegend in der Basalmembranzone (Becker et al., 1983 a) und offensichtlich veranlassen Zytolysen der basalen Keratinozyten mit Formation hyaliner Körperchen (El-

Labban & Kramer, 1975; Ebner & Gebhart, 1976) eine Nekrobiose, die sich an der Basalzellschicht und im Stratum proprium abspielt und histologisch als "mottenfraßähnliche" Destruktion der Basalmembranzone imponiert (Löning, 1984). Diese hyalinen Körperchen, auch "Civatte bodies" genannt, findet man beim cutanen L. p weitaus häufiger, als beim oralen Befall (Jablonska et al., 1975).

Auch im Epithel der normalen Mundschleimhaut sind Entzündungszellen, wenngleich in geringer Zahl vorhanden (Tyldesley & Appleton, 1973; Becker et al., 1985 b). Selbst bei keimfreien Mäusen fanden Bos & Burkhardt (1980) interepitheliale Zellen, die mit 7,4 auf 1000 Basalzellen angegeben wurden. Mit monoklonalen Antikörpern konnte gezeigt werden, daß das Stromainfiltrat des oralen L. p. aus vorwiegend T_8-positiven Lymphozyten vom suppressor/zytotoxischen Typ, sowie aus HLA-DR- und T_6-positiven Langerhanszellen und HLA-DR-positive Makrophagen besteht (Becker et al., 1983 b). Demgegenüber fand man in Hautbiopsien mehrheitlich T_4-positive Lymphozyten vom helper/inducer Typ (Bhan et al., 1981; McMillan et al., 1981). Gemeinsam ist vielen Unteruchungen, daß nur wenige oder keine B-Lymphozyten und Plasmazellen gefunden werden (Ebner & Jurecka, 1977; Bhan et al., 1981; Becker et al., 1983 a; Matthews et al., 1984).

Elektronenmikroskopisch wurde vor allem der Zustand der Basalmembran (BM), sowie die epithelialen Veränderungen untersucht. Auf Grund der Invasion von Entzündungszellen in das Epithel zeigt die BM vielfach Unterbrechung, Unregelmäßigkeit und Verdickung (Hashimoto et al., 1966; Pullon, 1969; Ebner & Gebhart 1972), es finden sich in vielen Fällen aber auch abgelöste BM-Formationen in der Lamina propria (El-Labban & Kramer, 1975). Im Epithel scheint eine Degeneration der Hemidesmosomen und Desmosomen vor allem in der Basalzellschicht stattzufinden, so daß es zu einer Abtrennung der BM vom Epithel und im Epithel selbst zu erweiterten Interzellularräumen kommt (Shklar et al., 1978). Die inter-

zelluläre Flüssigkeitsansammlung kann besonders im Stratum spinosum soweit führen, daß die Zellen zu "schwimmen" scheinen, obwohl sie über verlängerte interzelluläre Fortsätze in Verbindung stehen (Pullon, 1969). Vor allem in der Stachelzellschicht findet man Langerhanszellen, deren Verteilung innerhalb eines Präparates erheblich variiert (El-Labban, 1977). Diese Verteilung steht offenbar in direktem Zusammenhang mit dem Zustand der Basalzellschichten und der Basalmembran.

1. 2. Pathologie und Histopathologie des oralen Lichen planus

Die Diagnose des oralen L. p. läßt sich überwiegend auf Grund des klinischen Befundes stellen. An Hand von 213 untersuchten Fällen fanden McClatchey et al. (1975) bei 96 % eine übereinstimmende klinische und histologische Diagnose. Bei klinisch schwierig zu diagnostizierenden Fällen ist eine histologische Untersuchung notwendig, wobei zusätzlich eine immunhistochemische Untersuchung angezeigt sein kann.

Die oralen Läsionen werden entsprechend ihrem klinischen Erscheinungsbild in verschiedene Typen eingeteilt. Dabei sind Kombinationen möglich. Nicht zuletzt deshalb sind die Angaben in der Literatur kontrovers (Cooke, 1954; Shklar & McCarthy, 1961; Herrmann, 1963, 1970; Andreasen, 1968 a/b; Tyldesley, 1974; Silverman & Griffith, 1974; McClatchey et al., 1975; Neumann-Jensen et al., 1977). Die in dieser Arbeit gestellten Diagnosen orientieren sich an den von Herrmann (1963, 1970) veröffentlichten klinischen und histologischen Kriterien. Folgende L. p.-Formen werden unterschieden:

Reticulärer L. p.
Erosiver L. p.
Atrophischer L. p.
Plaque-like L. p.
Bullöser L. p.

a) Lichen planus reticularis

Diese häufig gefundene Form wird auch als "typischer" L. p. bezeichnet (Herrmann, 1963). Es findet sich eine grauweiße, netzartige Zeichnung der Schleimhaut, die peripher kleine, weiße Papeln aufweisen kann. Die leicht erhabenen, nicht abwischbaren, ihrer Unterlage fest aufsitzenden Elemente werden als Wickham'sche Streifen bezeichnet und scheinen durch begrenzte epitheliale Hyperplasie (Summerly et al., 1964) und durch Verhornung der oberen Epithellagen verursacht zu sein (Andreasen, 1968 b).

Histologie: Man findet eine Hyperkeratose. Im Gegensatz zum L. p. der Haut dominiert beim oralen L. p. eine Hyperparakeratose (Ellis, 1967; McClathey et al., 1975). Ferner läßt sich eine Akanthose, vakuolige Destruktion der Basalzellschicht mit Invasion von Entzündungszellen und Verlust der regelrechten Epithelleiste beobachten. Unterhalb der Basalzellen ist eine schmale, eosinophile Schicht zu bemerken, die einer verdickten BM ähnelt (El-Labban & Kramer, 1975). Im Bindegewebe findet sich das charakteristische, bandförmige, dem Epithel anliegende, entzündliche Infiltrat.

b) Erosiver Lichen planus

Man sieht graugelbliche, speckig belegte oder hochrote Erosionen bzw. flache Ulcerationen, die mit regionärem Lymphknotenbefall einhergehen können und oft über viele Wochen bestehen.

Histologie: Unspezifisches Ulcus, reduziertes Epithel. Ist an den Grenzen der Erosion das Epithel fixiert, muß man davon ausgehen, daß nicht ein bullöser L. p. voranging.

c) Atrophischer Lichen planus

Diese Form des L. p. ist wegen des Verlustes der Papillen an der Zunge besonders gut zu erkennen. Bisweilen wird dies als Zeichen einer älteren Läsion ge-

deutet, die wegen der dünnen Epitheldecke schließlich zur Ulceration führen kann, bzw. als Ausdruck einer erosiven Läsion, die atrophisch "abheilt".
Histologie: Dünnes, hyperkeratotisches Epithel, Verlust der Retezapfen, mäßig entzündliches Infiltrat des Bindegewebes.

d) Plaque-like Lichen planus

Diese auch als hypertrophe Form des L. p. beschriebene Variante zeichnet sich durch leukoplakie-ähnliches Aussehen aus, wobei die Diagnose an Hand der peripher meist vorhandenen typischen Lichen-Zeichnung möglich ist.
Histologie: Im wesentlichen wie der retikuläre L. p. mit zusätzlich hyperplastischem Epithel.

e) Bullöser Lichen planus

Hierbei handelt es sich um eine sehr seltene Form des oralen L. p., da die bis 5 mm große Blasen innerhalb kurzer Zeit platzen und dann Erosionen hinterlassen, die durch flottierende Epithelreste gekennzeichnet sind.
Histologie: Typisch ist die subepitheliale Blasenbildung mit vakuoliger Degeneration der benachbarten Epithelschichten und abgelöste Epithelien.

1.3 Aufbau und Struktur der extrazellulären Bindegewebsbestandteile

Menschliches Bindegewebe besteht aus zellulären und extrazellulären Bestandteilen. Die Bindegewebszellen werden unterteilt in "fixe" und "freie" Zellen. Fibrozyten und Fibroblasten sind fixe Zellen, denen die Aufgabe zufällt, Interzellularsubstanz zu bilden und darüber hinaus bei der Wundheilung mitzuhelfen (Wallraff, 1972). Die freien Zellen des Bindegewebes, die aus Blutgefäßen ausgetreten sind, gehören überwiegend zum Abwehrsystem. Es handelt sich um Histio-

zyten, Mastzellen, Plasmazellen und Leukozyten (Leonhardt, 1985). Die extrazelluläre Matrix des Bindegewebes baut sich aus verschiedenen Glykoproteinen wie z B. Fibronectin und Laminin, Glykosaminoglykanen, Proteoglykanen und Kollagenen auf. Kollagene sind strukturell verwandte Proteine (Bornstein & Sage, 1980; V. d. Mark et al., 1984), die im Bindegewebe wegen ihres Aufbaus vom molekularen Bereich bis hin zur kollagenen Faser eine hervorragende Stellung einnehmen (Sandritter, 1981). Vorläufer der Kollagene sind die Prokollagene. Die von den Ribosomen des rauhen endoplasmatischen Retikulums gebildeten Pro α_1 und α_2Ketten bestehen aus etwa 1050 Aminosäuren. Die Prolin- und Lysingruppen der α Ketten werden im rauhen endoplasmatischen Retikulum hydroxyliert, danach werden die terminalen Peptidsegmente über Disulfidbrücken verbunden. Nach Glykosylierung werden jeweils drei Pro α Ketten in Form einer rechtsdrehenden, durch Wasserstoffbrücken verbundenen Tripelhelix verdrillt. Extrazellulär spalten dann spezifische Prokollagenpeptidasen je eine Sequenz am N- und C-terminalen Ende des Prokollagens ab. Das dadurch entstandene Kollagenmolekül lagert sich seitlich versetzt mit weiteren Kollagenmolekülen aneinander und wird durch kovalente Bindungen quervernetzt. Hierdurch entsteht eine Kollagenfibrille (Jungermann & Möhler, 1984; Buddecke, 1985).

Die Aminosäurensequenz bestimmt den Kollagentyp. Dennoch haben diese Kollagentypen gemeinsame Kennzeichen, z. B. Hydroxyprolin- und Hydroxylsinreichtum oder, daß jede dritte Aminosäure Glycin ist, von Kollagen Typ IV abgesehen (Martinez-Hernandez & Amenta, 1983). Inzwischen kennt man elf polymorphe Kollagentypen (Miller, 1983).

Im Rahmen dieser Arbeit sind die ersten sechs Kollagentypen von Interesse:

Kollagen	Zusammensetzung der Ketten	Vorkommen
Typ I	$[\alpha_1 (I)]_2 \alpha_2$	Haut, Sehnen, Knochen
Typ II	$[\alpha_1 (II)]_3$	Hyaliner Knorpel
Typ III	$[\alpha_1 (III)]_3$	Haut, Gefäße, Muskulatur
Typ IV	$[\alpha_1 (IV)]_3$	Basalmembranen
Typ V	nicht einheitlich	perizellulär im Stroma
Typ VI	nicht genau bekannt	Wie Typ I und Typ III

Kollagene wurden lange Zeit für nicht immunogen gehalten. In den letzten Jahren war es jedoch gelungen, spezifische Antikörper herzustellen und die native Struktur, den Metabolismus, aber auch die Pathologie dieser Proteine zu untersuchen. Dabei konnten die antigenen Eigenschaften der Kollagene ausgenutzt werden, die sich aus deren Aufbau ergeben: Die α Ketten bilden sequentielle antigene Determinanten, die beiden terminalen Enden sowohl sequentielle, als auch konfirmationelle, die Tripelhelix wiederum nur konfirmationelle Determinanten. Schließlich erwiesen sich auch die Prokollagene als immunogen und zwar ausgeprägter, als die Kollagene selbst (Furthmayr & Timpl, 1976).

Durch die Herstellung typspezifischer Antikörper (Timpl et al., 1982c) konnten auf dem Gebiet der Kollagenforschung in den letzten Jahren große Fortschritte erzielt werden. Heute ist die Verteilung der Kollagentypen I bis VI weitgehend bekannt. Typ I und III Kollagen sind interstitiell lokalisiert und bilden als Hauptbestandteile des Bindegewebes dicke Faserbündel oder fibrilläre Geflechte aus (Becker et al., 1986 a), die wahrscheinlich von Kollagen Typ V verknüpft und überzogen werden.

Kollagen Typ II ist auf die Matrix des Knorpels beschränkt (Burgeson, 1982), je-

doch findet man dort in geringen Mengen auch andere Kollagentypen (Ayad et al., 1984).

Typ IV Kollagen wird ausschließlich in der BM gefunden (Martinez-Hernandez & Amenta, 1983). Daher wird es ausführlich in Zusammenhang mit der "Struktur und Funktion der Basalmembran" beschrieben, ebenso wie die Glykoproteine Laminin und Fibronectin, die in enger Beziehung zur BM stehen.

Die Lokalisation von Kollagen Typ V, das ein feinfibrilläres Muster zeigt und im Normalgewebe weniger als 2 % des Gesamtkollagens ausmacht (Narayanan et al., 1983), war lange Zeit umstritten. Während früher einige Autoren diesen Kollagentyp sowohl dem Interstitium als auch der BM zurechneten (Madri et al., 1980; Furthmayr et al., 1982; Salonen et al., 1984), ist heute bekannt, daß es sich um ein ausschließlich interstitielles Kollagen handelt, das die subepitheliale und vaskuläre BM lediglich berührt (Becker et al., 1986 a; Schuppan et al., 1986 a).

Kollagen Typ VI, das ähnlich wie Typ I und III ubiquitäre Verteilung im Bindegewebe zeigt (Aumailley et al., 1985) und durch dichte amorphe oder sehr feinfibrilläre Muster imponiert (V. d. Mark et al., 1984), wird aber auch in der Media von Gefäßen gefunden. Auf Grund des Verteilungsmusters wird diesem Kollagentyp Stütz- und Stabilisierungsfunktion zugeschrieben. Typ VI Kollagen scheint aufgrund seiner makromolekularen Organisation einmalig zu sein. Dieses mikrofibrilläre Kollagen ist offensichtlich weder mit den fibrillären Kollagentypen I, II und III, noch mit dem ein Netzwerk bildenden Typ VI vergleichbar (V. d. Mark et al., 1984; Engvall et al., 1986).

Von Interesse ist in diesem Zusammenhang das Glykoprotein Undulin, das erstmalig von Schuppan et al. (1986 b) beschrieben wurde. Undulin weist deutliche, parallel undulierende Struktur auf und wird im gesamten Interstitium, nicht aber in Zellen oder Basalmembranen gefunden. Immunelektronenmikroskopische Befunde lassen vermuten, daß Undulin die Fibrillen des Kollagen Typ I zu größeren Bündeln verbindet.

1.4 Aufbau und Funktion der Basalmembran

Die BM ist ein ubiquitärer, extrazellulärer Bestandteil, der Bindegewebe von Epithel, Endothel, Muskelfasern und Nervensystem trennt (Laurie et al., 1980; Stanley et al., 1982; Timpl et al., 1984). Je nach Gewebeart finden sich ultrastrukturell eine, zwei oder gar drei Laminae. Meist bestehen die BM jedoch aus einer Lamina densa und einer dem aufsitzenden Gewebe zugewandten Lamina rara, auch Lamina lucida genannt (Martinez-Hernandez & Amenta, 1983; Salonen et al., 1984). Biochemische Analysen zeigten, daß die BM prinzipiell aus einem kollagenen Bestandteil und mehreren nichtkollagenen Komponenten aufgebaut ist, wobei letztere in Glykoproteine und Proteoglykane unterteilt werden (Ketalides et al., 1979). Diese Komponenten bilden einerseits durch ihre Struktur die BM, andererseits hat jeder Bestandteil eine spezifische biologische Funktion (Szarfman et al., 1982). Nach wie vor ist allerdings unklar, wie sich die einzelnen BM-Substanzen genau anordnen (Timpl et al., 1982 a; Furthmayr et al., 1982). Insgesamt kann man die wichtigsten Aufgaben der BM so zusammenfassen:

- Leitstruktur für Epitheldifferenzierung
- Cellattachment
- Elastische Stützfunktion
- Filterfunktion
- Beteiligung an Blutgerinnung und Wundheilung

Nachdem lange Zeit der Bildungsort und der Ablauf der Biosynthese der BM-Bestandteile unbekannt war und vermutet wurde, daß in Analogie zur ähnlich aufgebauten Interzellularsubstanz die Bindegewebszellen die Fertigung der BM verursachen (Wallraff, 1972), weiß man heute, daß die BM von den Zellen gebildet wird, die ihr aufsitzen (Laurie et al., 1980; Vracko, 1982). Allerdings ist noch zu klären, wie der extrazelluläre Aufbau der BM erfolgt, da über den Mechanismus

der zwischen der Ausschleußung des BM-Materials aus der Zelle und dem definitiven extrazellulären Erscheinungsbild der BM liegt, wenig bekannt ist (Csato & Merker, 1983).

Da die BM auch Filterfunktion ausübt, finden sich in ihr Komponenten, die keine wirklichen BM-Bestandteile sind. Aus diesem Grunde scheint es sinnvoll, "intrinsic" Komponenten, die in allen BM vorhanden sind, von "extrinsic" Faktoren, die fakultativ auftreten, zu unterscheiden (Amenta et al., 1983). Zur erstgenannten Gruppe wird Typ IV Kollagen, Laminin und Heparansulfat, möglicherweise auch Entactin, zur zweiten Gruppe dagegen Fibronectin, sowie Chondroitinsulfat gerechnet (Szarfman et al., 1982; Martinez-Hernandez & Amenta, 1983).

Als das Rückgrat der BM wird Typ IV Kollagen angesehen, das ausschließlich dort gefunden wird (Burgeson, 1982; Stanley et al., 1982). Diese Funktion leitet sich vom Molekülaufbau und der Anordnung der Moleküle zueinander ab (Timpl et al., 1981). Eine Besonderheit im Grundbaustein dieses Kollagentyps ist, daß in der Tripelhelix, die immer wieder Unterbrechungen zeigt, zwei nichtkollagene Segmente vorhanden sind, die NC 1 und NC 2 genannt werden. Die NC 1-Domäne befindet sich am carboxyterminalen, globulären Teil der Helix. Das aminoterminale Ende verbindet sich mit weiteren drei Helices zur 7 S-Domäne (Risteli et al., 1980; Rao et al., 1985) und verleiht dem so entstandenen Molekül ein spinnenähnliches Aussehen (Abb. 1). Die NC 1-Domänen der Typ IV Kollagenmoleküle haben große Bindungsaffinität zueinander, so daß schließlich eine netzförmige Struktur entsteht, mit der man sich sowohl die erhebliche mechanische Stabilität, als auch die Biegsamkeit von Basalmembranen gut erklären kann (Timpl et al., 1981; Glanville et al., 1982; Weber et al., 1984).

Laminin, ein Glykoprotein, das in fast allen BM vorkommt (Timpl et al., 1982 b; Leu et al., 1986), hat eine Schlüsselrolle in der Organisation der BM inne. Es bindet an verschiedenen Komponenten der BM, einschließlich Typ IV Kollagen,

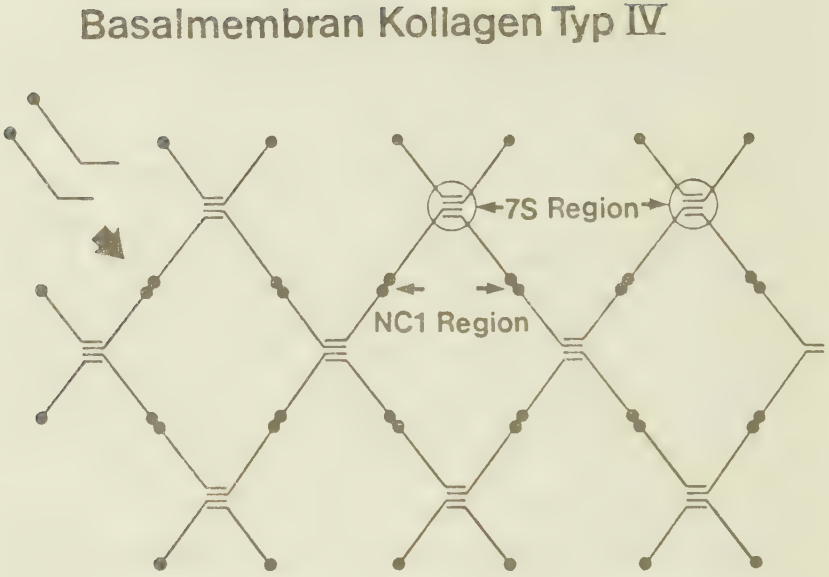

Abb. 1: Zweidimensionales Modell von Typ IV Kollagenmolekülen der Basalmembranmatrix

und verbindet diese miteinander. Garbi & Wollman (1982) zeigten, daß die Zugabe von Laminin in kultivierte Thyroidzellen, die nur dünne BM-Segmente aufwiesen, zu einem raschen Aufbau einer ununterbrochenen BM führt. Epithel-, Muskel- aber auch Tumorzellen besitzen Rezeptoren für Laminin, so daß eine rezeptorvermittelte Anheftung an das Laminin der BM möglich ist. Laminin sorgt aber nicht nur für Cellattachment, sondern beeinflußt auch Zellwachstum, Zellmorphologie und Zelldifferenzierung (Kleinman et al., 1985).

Neben Laminin wird Heparan-Sulfat-Proteoglykan, das vor einigen Jahren isoliert werden konnte, als wichtiger BM-Baustein betrachtet und in vielen, aber nicht

allen BM's gefunden (Laurie et al., 1982). Die biologische Funktion dieser Proteine liegt darin, daß sie ladungsselektiv filtern, d. h. den Durchtritt von negativ geladenen Makromolekülen durch die BM blockieren (Stanley et al., 1982). Proteoglykane, die auch für das Cellattachment eine Rolle spielen sollen, sind vorwiegend an der Oberfläche der Lamina densa lokalisiert (Spiro & Parthasarathy, 1982; Szarfman et al., 1982).

In engem Zusammenhang mit der BM steht das Glykoprotein Fibronectin, dennoch wird es nicht als eigentliche BM-Komponente betrachtet. Fibronectin findet sich in nur wenigen BM's, meist in solchen mit ausgeprägter Filterfunktion (Courtoy et al., 1982) und man geht davon aus, daß es sich dann um Plasma-Fibronectin handelt (Martinez-Heranandez & Amenta, 1983), im Gegensatz zum sehr ähnlich aufgebauten Gewebe-Fibronectin (Amenta et al., 1983; Proctor et al., 1985). Trotzdem scheint Fibronectin für den Aufbau von BM's notwendig zu sein und vor allem bei der Interaktion der BM mit dem Bindegewebe eine wichtige Rolle zu spielen, indem es durch Ausbildung eines feinfilamentären Netzes Zellen mit der BM und/oder der Interzellularsubstanz verankert (Ruoslathi et al., 1981). Daneben sorgt Fibronectin für Aufrechterhaltung zahlreicher zellulärer Aktivitäten (Nagata et al., 1985), einschließlich der Wundheilung (Grinell, 1984).

Auf andere nichtkollagene BM-Komponenten wie etwa Entactin oder Nidogen, deren Verteilung und Funktion innerhalb der BM noch ziemlich unklar sind, wird im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen.

2. FRAGESTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mittels indirekter Immunfluoreszenz und monospezifischer Antikörper gegen Prokollagen Typ III, Kollagen Typ IV, V, VI, Laminin, Fibronectin und Undulin

1. Das spezifische Verteilungsmuster im Bindegewebe der normalen Mundschleimhaut und erstmalig beim oralen Lichen planus darzustellen

2. Erstmalig beim oralen Lichen planus zu untersuchen, welchen Veränderungen die Basalmembran unterliegt und diese Ergebnisse mit normaler Mundschleimhaut zu vergleichen

3. Durch Aufschluß über die Verteilung von kollagenen und nichtkollagenen Bestandteilen der extrazellulären Bindegewebsmatrix mögliche ätiologische Faktoren zu erklären

3. MATERIAL UND METHODE

3. 1. Patientengut

In der chirurgischen Abteilung der Zahnklinik Nord der Freien Universität Berlin wurde im Zeitraum vom 10. 5. 1984 bis zum 1. 4. 1985 Biopsiematerial zusammengetragen, das unter Lokalanästhesie (Ultracain DS forte^{R}) bei Patienten mit oralem L. p. aus diagnostischen Gründen entnommen wurde. Das Gewebe wurde orientiert und sofort in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Die Aufbewahrung erfolgte bei -75° C.

Untersucht wurden 13 Patienten mit isoliertem oralen Lichen planus. Das Durchschnittsalter betrug 57,6 Jahre (30 bis 78 Jahre). 5 Patienten waren weiblich, 8 Patienten männlich. Die Diagnose lautete

in 9 Fällen: L. p. reticularis

in 2 Fällen: L. p. erosivus et atrophicans

in 1 Fall : L. p. bullosus

in 1 Fall : L. p. atrophicans

Die Entnahmestelle war in 11 Fällen die Wange, in 2 Fällen die rechte Zungenseite.

5 Biopsien normaler Mundschleimhaut (2 weibliche und 3 männliche Patienten mit einem Durchschnittsalter von 45,3 Jahren) wurden ebenfalls mit allen Antikörpern untersucht, um die Ergebnisse kontrollieren und vergleichen zu können. Diese Biopsien waren mit Genehmigung der Patienten in 4 Fällen der Wange und in 1 Fall der Zunge entnommen worden.

3. 2. Histologische Färbung

Zur Sicherung der klinischen Diagnose und Überprüfung der ca. 4 µm dicken Kryostatschnitte, wurde von allen Biopsien eine Hämatoxylin & Eosin Färbung

angefertigt.

Nach Entnahme der Schnitte aus dem Gewebearchiv (-75° C), wurden diese luftgetrocknet und dann für 5 Minuten in Aceton fixiert. Anschließend erfolgte das Dehydrieren in Alkohol. Als optimale Färbungszeiten stellten sich die folgenden heraus: 15 Minuten saures Hämatoxylin und nach Bläuen unter fließendem Wasser und aufsteigender Alkoholreihe, 3 Minuten alkoholisches Eosin. Erneut aufsteigende Alkoholreihe und kurzes Eintauchen der Schnitte in Xylol. Anschließend wurden die Präparate mit Eukitt eingedeckt.

3. 3. Herstellung der Immunreagenzien

3. 3. 1. Präparation der Antigene

Die Kollagen-Typen IV, V und VI wurden durch fraktionierte Salzfällung und Säulenchromatographie aus pepsinbehandelter menschlicher Plazenta gewonnen.

Die 7 S-Domäne wurde aus einem Gemisch von Typ IV Kollagenfragmenten nach bakterieller Kollagenasebehandlung isoliert und mittels Molekularsieb-Chromatographie weiter gereinigt (Risteli et al., 1980; Schuppan et al., 1986 a). Die NC 1-Domäne wurde ebenfalls durch ausgiebige bakterielle Kollagenasebehandlung von Kollagen Typ IV gewonnen, über DEAE-Cellulose gereinigt und durch Gel-Elektrophorese charakterisiert (Schuppan et al., 1986 c).

Die Reinigung von Typ V Kollagen wurde von Schuppan et al. (1986 a) ausführlich beschrieben. Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurde Typ V Kollagen mit der Kettenzusammensetzung α 1 $(V)_2$ α 2 (V) verwendet.

Kollagen Typ VI wurde nach mehreren Präzipitationsschritten über Carboxymethyl-Cellulose und Agarose chromatographiert (Schuppan et al., 1985).

Ebenfalls aus menschlicher Plazenta konnte das Laminin-Fragment P 1 durch Inkubation mit Kollagenase und anschließender Molekularsieb-Chromatographie gewonnen werden (Risteli & Timpl, 1981; Schuppan et al., 1986 a).

Plasma-Fibronectin wurde nach der Methode von Miellka et al., (1982) isoliert. Dies geschah dadurch, daß Plasma auf eine Antifibronectin-Agarosesäule gegeben und das gebundene Fibronectin durch pH-Senkung eluiert wurde.

Prokollagen Typ III (pN III ohne carboxyterminales Propeptid) wurde aus der Haut neugeborener Affen durch neutrale Salz-Extraktion, Salzfällung und DEAE-Chromatographie gewonnen (Cantaluppi et al., 1986).

Undulin, ein neu entdecktes Glykoprotein, wurde durch neutrale Salz-Extraktion aus Affenhaut isoliert. Eine detaillierte Beschreibung wird von Schuppan et al. (1986 b) veröffentlicht.

Alle Antigene wurden an Hand von SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, mehrfachen Aminosäurenanalysen und sensitiven Radioimmunoassays auf ihre Reinheit geprüft (Schuppan et al., 1985, 1986 a, b; Becker et al., 1986 a).

3. 3. 2. Herstellung der Antiseren

Die oben genannten Antigene wurden, von 7 S-Kollagen abgesehen, in einer Menge von 0,3 - 2 mg in jeweils 0,5 ml PBS (Phosphate buffered saline, pH 7,2) gelöst, mit dem gleichen Volumen kompletten Freund'schen Adjuvans (Difco, Minnesota, USA) gemischt und Kaninchen (New Zealand white rabbit) injiziert. Antiserum gegen 7 S-Kollagen wurde hergestellt, indem 4 mg des Antigens in 2 ml PBS gelöst und mit komplettem Freund'schem Adjuvans gemischt, einer Ziege verabreicht wurde. Nach 1 Monat erfolgten im Abstand von 2 Wochen Auffrischungen mit denselben Antigenmengen, die allerdings mit inkompletten Adjuvans gemischt waren. Nach zwei- oder mehrmaliger Auffrischung wurde den Kaninchen aus der Ohrarterie, der Ziege aus der Vena jugularis Blut abgenommen. Antiserum gegen IgG der Ziege und des Kaninchens wurde aus Kaninchen oder Ziegen gewonnen, nach Injektion von 2 mg IgG/0,5 ml PBS bzw. 8 mg IgG/2 ml PBS (Becker et al., 1986 a).

3. 3. 3. Herstellung typspezifischer Antikörper

Die spezifischen Antikörper gegen die humanen Kollagen Typen IV (7 S- und NC 1-Domäne), V und VI, Affen-Prokollagen Typ III, sowie Laminin-Fragment P 1, Plasma-Fibronectin und Undulin wurden affinitätschromatographisch isoliert. Das Antiserum durchlief hierfür Chromatographie-Säulen, in denen die obengenannten Antigene an Sepharose CL 4B gebunden waren. Anschließend wurden die Antikörper von ihren betreffenden Antigenen eluiert. Nach Dialyse gegen PBS enthielten die Antikörperlösungen 10 - 50 µg Protein/ml und wurden in Aliquots bei -20° C aufbewahrt (Schuppan et al., 1985, 1986 a). Sensitive Radioimmunassays zeigten, daß alle Antikörper spezifisch gegen "ihre" Antigene gerichtet und frei von Kreuzreaktionen gegenüber anderen Gewebeproteinen waren.

Die Herstellung und Reinigung der Antikörper erfolgte in der Arbeitsgruppe Hahn, E. G. und Schuppan, D. des Klinikums Steglitz der FU Berlin und detaillierte Beschreibungen der angewandten Methoden liegen vor (Schuppan et al., 1985, 1986 a).

3. 4. Reagenzien

3. 4. 1. Konjugate

Die Kaninchenantikörper gegen Prokollagen Typ III, die NC 1-Domäne von Kollagen Typ IV, Kollagen Typ V, VI sowie Laminin, Fibronectin und Undulin wurden für die indirekte Immunfluoreszenz mit TRITC-markierten Anti-Kaninchenimmunglobulinen beschichtet (pig-anti-rabbit, Dakopatts, Hamburg, FRG).

Die Ziegenantikörper gegen die 7 S-Domäne von Kollagen Typ IV wurden mit TRITC-markierten Anti-Ziegenimmunglobulinen inkubiert (rabbit-anti-goat, Cappel Laboratories, Cochranville, USA). Kontrollen für die Immunfluoreszenzen wurden derart durchgeführt, daß statt des primären Antikörpers PBS verwendet wurde.

3. 4. 2. Puffer, Sonstiges

a) Pufferlösung: PBS (Phospharte buffered saline)

428 ml KH_2PO_4

1072 ml Na_2HPO_4

90,0 gr. NaCl

8500 ml aqua bidest

Mit 2 N NaOH auf pH 7,2 eingestellt.

b) Gelatine zur Beschichtung der Objektträger:

0,5 gr. Gelatine, gepulvert

0,4 gr. Kaliumchromsulfat

100 ml aqua bidest

c) Die Präparate der Immunfluoreszenz wurden mit einer Glycerin-PBS-Lösung 4 : 1, die H & E Präparate mit Eukitt eingedeckt.

3. 5. Indirekte Immunfluoreszenz

Ca. 4 µm dicke Gefrierschnitte wurden mit einem Kryostaten (Leitz 1720) geschnitten, auf gelatinisierte Objektträger aufgelegt, luftgetrocknet und anschliessend für 10 Minuten in Aceton fixiert.

Für die indirekte Immunfluoreszenz wurde die Methode nach Wick et al., (1976) modifiziert angewandt:

- 45 Minuten Inkubation der Schnitte mit dem primären Antikörper (Antikörperkonzentration: 10 - 20 µm/ml).
- Dreimaliges Waschen der Schnitte in PBS, insgesamt 45 Minuten.
- 45 Minuten Inkubation der Schnitte mit dem Konjugat nach vorgetesteter Verdünnung (1:20 - 1:40).
- Erneutes, dreimaliges Waschen der Schnitte in PBS.

3. 6. Optisches System

Die Immunfluoreszenzpräparate wurden mit einem Leitz Orthoplan Mikroskop (Leitz-Filter N2 für TRITC) ausgewertet und fotographisch mit Ilford HP 5 und Kodak Ektachrom 400 dokumentiert. Dabei wurde besonderer Wert auf die Standardisierung der Belichtungszeiten gelegt, die nur entsprechend der Vergrößerung verändert wurden.

4. ERGEBNISSE

Immunhistochemische Untersuchungen, insbesondere die indirekte Immunfluoreszenz, bieten den Vorteil, spezifische Bestandteile des Bindegewebes und der BM exakt zu lokalisieren.

Diese Befunde werden subjektiv durch den Betrachter ausgewertet. Daher gilt es, durch genaue Kenntnisse der Histologie und Immunhistochemie des normalen Gewebes, das pathologische Geschehen entsprechend der Fragestellung zu diagnostizieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde mittels polyklonaler Antikörper die Verteilung von Prokollagen Typ III, der Kollagen Typen IV (7 S-Kollagen uund NC 1-Domäne), V und VI, sowie der Glykoproteine Laminin, Fibronectin und Undulin untersucht.

Nachfolgend werden die erhobenen Befunde für jeden Antikörper an der normalen Mundschleimhaut und beim oralen L. p. beschrieben, da die Kenntnisse des normalen Verteilungsmusters Voraussetzung für die Interpretation pathologischer Befunde ist.

4. 1. Lichtmikroskopie (H & E Färbung)

Hauptsächlich wird beim oralen L. p. die Diagnose zunächst anhand des klinischen Befundes gestellt (Abb. 1 und 2). Zusätzlich ergibt die histologische Untersuchung eine Bestätigung oder Modifikation der klinischen Diagnose (Abb. 3 und 4). In den hier untersuchten H & E Präparaten konnten die für den oralen L. p. typischen Veränderungen erkannt und bestätigt werden (vergleiche Kapitel 1.2).

4. 2. Antikörper gegen Basalmembranproteine

Die 7 S-Domäne von Kollagen Typ IV zeigte an normaler Mundschleimhaut eine intensive, gleichmäßig brilliante und kontinuierliche Fluoreszenz der subepitheliа-

len BM (Abb. 5). War eine Verbreiterung der BM zu bemerken, so erklärte sich diese durch tangentialen Anschnitt. Klar und deutlich positiv stellten sich auch die BM der Blutgefäße und Kapillaren (Abb. 5), sowie die BM der Speicheldrüsen, der quergestreiften Muskulatur und der Nerven dar. Die Intensität der Fluoreszenz war in Gefäßwänden besonders ausgeprägt.

Die Befunde, die sich bei Markierung mit Anti-NC 1 Antikörpern ergaben, waren denen mit 7 S-Kollagen Antikörpern entsprechend. NC1 wies an normaler Mundschleimhaut eine schmale und intensiv markierte subepitheliale BM auf. Im Stratum proprium stellte sich die BM der Gefäße, Speicheldrüsen, quergestreiften Muskulatur und der Nerven einwandfrei dar.
Epithel und interstitielles Bindegewebe reagierten auf Antikörper gegen die 7 S- und NC 1 Domäne von Kollagen Tyxp IV völlig negativ.

Markierungen mit Anti-Laminin P1-Antikörpern zeigten an der normalen Mundschleimhaut ebenfalls ein nicht markiertes Epithel. Die subepitheliale BM imponierte durch fortlaufende, schmale Fluoreszenz, die aber weniger intensiv war, als dies bei Kollagen Typ IV beobachtet wurde. Das interstitielle Bindegewebe war negativ, während die BM's von Gefäßen, Speicheldrüsen, quergestreifter Muskulatur und Nerven gute Reaktionen zeigten.

Grundsätzlich trat auch beim oralen L. p. mit Antikörpern gegen Typ IV Kollagen (7 S- und NC 1-Domäne) und Laminin keine Epithelreaktion auf.
Mit Antikörpern gegen die 7 S-Domäne wurden in den meisten Präparaten sowohl völlig intakte, als auch massiv veränderte BM-Bereiche beobachtet. Die Übergänge waren fließend und standen in Korrelation mit dem entzündlichen Infiltrat des Bindegewebes. Dicke, verstärkte BM-Ablagerungen konnten soweit führen, daß kerzenwachsartige Tropfmuster entstanden. Diese Muster wiesen immer in Richtung Bindegewebe, während die Linienführung zum Epithel unauffällig war (Abb. 6).

Gelegentlich waren Unterbrechungen der subepithelialen BM zu bemerken und im oberen Stratum proprium fiel eine Vermehrung der Blutgefäße, einschließlich der Kapillaren auf (Abb. 7). In den Bereichen der veränderten, verdickten BM fanden sich im oberen Bindegewebe Fluoreszenzen, die anscheinend im Überschuß produziertes BM-Material darstellen (Abb. 7). Das mittlere und tiefe Stroma zeigte keine Veränderungen im Vergleich zur normalen Mundschleimhaut.

NC 1-Markierungen zeigten beim oralen L. p., wie die 7 S-Domäne, insbesondere in BM-Nähe veränderte Strukturen. In Bereichen des entzündlichen Infiltrates waren neben verdickten, granulären BM-Ablagerungen, die ebenfalls tropfenförmige Muster annehmen können (Abb. 8), auch BM-Auflockerungen zu bemerken. Diese Auflockerungen, die auch mehrfache Perforationen zeigten, waren aber ebenso wie einmalige Unterbrechungen selten (Abb. 9). Im subepithelialen Bindegewebe waren ähnlich wie bei der 7 S-Markierung zerstreut liegende BM-Fragmente zu sehen (Abb. 8). Die erhöhte Anzahl der Gefäße und Kapillaren im oberen Bindegewebe zeigte sich durch brilliante Fluoreszenz der subendothelialen BM, sowie der BM um glatte Muskelzellen.

Beim oralen L. p. zeigten Antikörper gegen Laminin ebenso wie Kollagen Typ IV epithelial keine Fluoreszenz. Die subepitheliale BM wies mit wenig ausgeprägter Markierung Verbreiterung, gelegentlich Abtropfung, selten Perforation auf (Abb. 10). Unterhalb der BM konnten abgelöste BM-Bruchstücke beobachtet werden, die ausgeprägt fluoreszierten. Im Stratum proprium zeigten die BM's der Gefäße und Kapillaren, Speicheldrüsen und Nerven einwandfrei positive Reaktionen, im Gegensatz zum negativen interstitiellen Stroma. Auch mit Hilfe dieses Antikörpers konnte im oberen Bindegewebe eine erhöhte Gefäßanzahl nachgewiesen werden.

Antikörper gegen verschiedene BM-Proteine ergaben ein identisches Verteilungsmuster, abgesehen davon, daß die Fluoreszenz von Laminin in der subepitheliа-

len BM weniger ausgeprägt war, als dies für Typ IV Kollagen beobachtet werden konnte.

4. 3. Antikörper gegen Prokollagen Typ III

In der normalen Mundschleimhaut zeigte Prokollagen Typ III eine intensive Fluoreszenz im gesamten interstitiellen Bindegewebe, wobei die Fluoreszenz bis an die subepitheliale BM heranreichte. Dieses Verteilungsmuster war aber keineswegs homogen. Während im tieferen Stratum proprium ein verschwommenes, amorphes Muster zu finden war, manifestierte sich dieses im oberen Bindegewebe anders. Dort beobachtete man eine intensive Fluoreszenz, die deutlich fibrilläre Strukturen aufwies. Darüber hinaus fand sich in der Adventitia von Gefäßen eine ausgeprägte Reaktion. Interstitielle Gewebe wie Drüsen, Muskulatur und Nerven blieben ausgespart,während die Bindegewebssepten zwischen einzelnen Drüsen und Muskelfasern eine intensive Fluoreszenz zeigten. Im Epithel trat keine Reaktion auf.

Auch an Präparaten der oralen L. p. konnte eine Verteilung von Prokollagen Typ III ausschließlich im Bindegewebe beobachtet werden (Abb. 11 und Abb. 12). In Arealen, die ein gering ausgeprägt entzündliches Infiltrat aufwiesen, zeigte das Bindegewebe mit intensiver Fluoreszenz fibrilläre Strukturen. Insgesamt war jedoch eine Auflockerung feststellbar. In Bereichen, die in der H & E Histologie ein dichtes entzündliches Infiltrat enthielten, waren erhebliche Prokollagen Typ III Destruktionen zu verzeichnen (Abb. 11 und Abb. 12). Die Fluoreszenz des vorhandenen Prokollagens war dennoch unvermindert. Im oberen Stratum proprium wurde in der Adventitia von Gefäßen eine intensive Markierung beobachtet. Unabhängig vom entzündlichen Bindegewebsinfiltrat war direkt subepithelial ein schmales, intensiv fluoreszierendes Band und im tieferen Bindegewebe ein normales, sehr dichtes und amorphes Muster zu sehen (Abb. 11).

4. 4. Antikörper gegen Kollagen Typ V

An normaler Mundschleimhaut konnte mit Antikörpern gegen Kollagen Typ V ein ausschließlich interstitielles Muster beobachtet werden. Eine Markierung der subepithelialen oder vaskulären BM wurde nicht festgestellt, obwohl die interstitiellen Fibrillen die subepitheliale BM zu berühren schienen. Immunhistochemisch zeigte Typ V Kollagen feine, gleichmäßig verteilte Fibrillen, die, wenn sie quer getroffen wurden, granulär erschienen (Abb. 13).
Die Gefäßmarkierung beschränkte sich auf die Intima der Arteriolen und Venen. Kapillaren enthielten offensichtlich kein Kollagen Typ V in der Intima.

Beim oralen L. p. zeigte das Epithel ebenfalls keine Fluoreszenz. Die subepitheliale BM wurde durch einstrahlende Kollagen Typ V-Fibrillen angedeutet. Die an sich typischen, kleinen Fibrillen im Bindegewebe waren unmittelbar subepithelial besonders gut erkennbar (Abb. 14). In diesem Bereich fanden sich auch immer wieder Bruchstücke von Typ V Kollagen, die intensiver fluoreszierten (Abb. 15). Je nach Lage des entzündlichen Infiltrates des Bindegewebes war eine Kollagenverminderung zu beobachten, wobei die Bindegewebszapfen ein weitgehend normales Verteilungsmuster aufwiesen (Abb. 14).
Die Intima der Blutgefäße zeigte eine ausgeprägte Fluoreszenz, während Kapillaren negativ reagierten. Drüsen, Muskulatur und Nerven blieben ebenfalls ausgespart.

4. 5. Antikörper Kollagen Typ VI

Mit Antikörpern gegen Typ VI Kollagen war an normaler Mundschleimhaut ein mikrofibrilläres und überwiegend amorphes Muster zu beobachten, das sich uber das gesamte Stroma einschließlich der interstitiellen Räume zwischen den Muskelbündeln und Speicheldrüsen erstreckte. Die Fluoreszenz war direkt sub-

epithelial und in den Bindegewebszapfen ausgeprägter als im tieferen Stratum proprium (Abb. 16). Zusätzlich wurde eine positive Reaktion in der Media und Adventitia von Blutgefäßen, vor allem der Arteriolen gesehen. Subendotheliale und subepitheliale BM's wiesen keine Fluoreszenz auf. In den Nervenfaszien wurde sowohl das Endoneurium, als auch die innere und äußere Seite der perineuralen BM von Kollagen Typ VI unterstrichen.

Auch an Präparaten des oralen L. p. zeigte Typ VI Kollagen eine Markierung des gesamten interstitiellen Bindegewebes. Während im tieferen Bereich das normale mikrofibrilläre und überwiegend amorphe Muster beobachtet wurde, fand sich im mittleren oder oberen Stratum proprium, je nach Lage des entzündlichen Infiltrats, ein Verlust der Fluoreszenzmarkierung (Abb. 17). Dies stellte sich als enorme Auflockerung des sonst flächigen Verteilungsmusters dar und gerade dort konnte eine sehr intensive Fluoreszenz des noch vorhandenen Kollagens festgestellt werden. Selbst wenn der Kollagenabbau unmittelbar in BM-Nähe erfolgte, blieb das Bindegewebe weitgehend durch einen schmalen, unveränderten Saum an Kollagen Typ VI begrenzt (Abb. 17).
Die subepitheliale BM selbst stellte sich aber ebenso wie die vaskuläre BM nicht dar. Vielmehr zeichnete sich die Media und Adventitia der Gefäße, vor allem der Arteriolen, durch intensive Reaktionen aus (Abb. 18).

4. 6. Antikörper gegen Gewebsfibronectin

Fibronectin zeigte an normaler Mundschleimhaut im Epithel keinerlei Reaktion, während im gesamten Bindegewebe eine relativ gleichmäßige Verteilung beobachtet wurde. Bei starker Vergrößerung konnte allerdings festgestellt werden, daß diese Verteilung nicht homogen war, sondern schwächer markierte, granuläre Muster von Bereichen mit sehr intensiv reagierender Fluoreszenz zum Lumen

hin intensiver schien.

Direkt subepithelial fand sich eine sehr intensive Fibronectinfluoreszenz (Abb. 19). Im tieferen Bindegewebe entsprach die Verteilung von Fibronectin weitgehend dem von Prokollagen Typ III und Kollagen Typ VI.

An Präparaten des oralen L. p. zeigte Fibronectin niemals eine epitheliale Fluoreszenz. Vielmehr war im gesamten Stratum proprium eine positive Reaktion zu sehen, die jedoch variierte und zwar in Abhängigkeit der Lage des entzündlichen Infiltrates. In diesen Arealen wurden erhebliche Auflockerungen bemerkt, die vor allem auf Kosten der weniger stark markierten, fibrillären Anteile gingen. Die verbliebene, meist amorphe Fibronectinmarkierung zeigte intensive Fluoreszenz (Abb. 20).

Blutgefäßwände ergaben ebenfalls eine positive Reaktion (Abb. 21).

Auch für Fibronectin konnte bei den untersuchten L. p.-Biopsien unmittelbar subepithelial und unterhalb des entzündlichen Infiltrates, also im tieferen Bindegewebe, ein Verteilungsmuster gefunden werden, das dem der normalen Mundschleimhaut entsprach (Abb. 21).

4. 7. Antikörper gegen Undulin

Dieses neu entdeckte Glykoprotein zeigte an der normalen Mundschleimhaut im Bindegewebe eine intensive Markierung. Undulin imponierte durch wellige, parallele Anordnung mehrerer Fibrillenbündel (Abb. 22), die eine außerordentlich starke Fluoreszenz aufwiesen.

Epithel und die subepitheliale BM zeigten keine positive Reaktion. Die subepitheliale Verteilung von Undulin endete meist mit ausgeprägter Fluoreszenz knapp unterhalb der BM und oftmals waren vor allem schmale Bindegewebszapfen nicht ausgefüllt. Das subepitheliale Muster war nicht homogen. Areale mit

mehr oder weniger stark ausgeprägt positiver Reaktion wurden beobachtet. Darüber hinaus konnte Undulin vermehrt in der Gefäßadventitia gefunden werden. Andere interstitielle Strukturen wie Nerven, Muskulatur und Speicheldrüsen blieben ausgespart.

Auch an Präparaten des oralen L. p. wies Undulin im Epithel und in der subepithelialen BM keine Reaktion auf. Während im tieferen Bindegewebe das normale Undulinmuster mit welliger, paralleler Anordnung mehrerer Fibrillenbündel beobachtet wurde, zeigte sich im oberen Stratum proprium in Abhängigkeit der Lage des entzündlichen Infiltrates, ein fast vollständiger Verlust der Undulinmarkierung (Abb. 23).

Die Adventitia der Blutgefäße erwiesen sich als Undulin-positiv und blieben dies auch, selbst wenn in diesem Areal sonst kaum noch Undulin gefunden wurde (Abb. 23). Daher war gerade subepithelial die erhöhte Gefäß- und Kapillaranzahl auffällig. Der Übergang von Gebieten, die ausgeprägte Undulindestruktion aufwiesen zum tieferen Stratum proprium, das normale Verhältnisse zeigte, war fließend und von kurzen Undulinfragmenten paralleler Anordnung gekennzeichnet (Abb. 24).

5. DISKUSSION

Immunhistochemische Untersuchungsverfahren haben auf Grund der Fortschritte der Immunologie und der damit verbundenen Enwicklung hochspezifischer monoklonaler und affinitäts-chromatographisch gereinigter polyklonaler Antikörper große Bedeutung gewonnen.

Durch die Immunhistochemie war es erstmals möglich, Bestandteile des zellulären Immunsystems und des Zytoskelettes, aber auch Bestandteile der extrazellulären Bindegewebs-Matrix und der Basalmembran im Gewebe zu lokalisieren.

Bisherige Untersuchungen über den Aufbau der extrazellulären Bindegewebs-Matrix konzentrierten sich vor allem auf normale Mundschleimhaut (Salonen et al., 1984; Becker et al., 1986 a; Schuppan et al., 1986 a) und pathologische Veränderungen, die im Rahmen von entzündlichen Prozessen in der Gingiva zu beobachten sind (Narayanan et al., 1985).

Die geringe Anzahl bisher vorliegender Untersuchungen vor allem über den Aufbau der Basalmembran und auch die Verteilung der feinfilamentären Kollagen Typen V und VI, erklärt sich daraus, daß erst vor sehr kurzer Zeit spezifische Antikörper gegen diese Proteine beschrieben wurden (V. d. Mark et al., 1984; Schuppan et al., 1985, 1986 a). Das Glykoprotein Undulin wurde erst kürzlich von Schuppan et al. (1986 b) beschrieben und über seine Bedeutung, Verteilung und Funktion ist bis heute nur sehr wenig bekannt.

Die hier vorgenommene Untersuchung hatte das Ziel, erstmalig das Verteilungsmuster der Kollagen Typen IV (7 S- und NC 1-Domäne), V und VI, sowie der Glykoproteine Laminin, Fibronectin und Undulin beim oralen L. p. darzustellen und mit normaler Mundschleimhaut zu vergleichen. Zusätzlich wurde das Verteilungsmuster von Prokollagen Typ III untersucht. Der Einsatz von Antikörpern gegen Prokollagen gestattet durchaus den Nachweis der entsprechenden Kollagen-

fibrille. Dies konnte an Hand identischer Verteilung von Kollagen Typ III und Prokollagen Typ III im Bindegewebe gezeigt werden (Nowack et al., 1976; Timpl et al., 1977).

Die Verwendung frischer Kryostatschnitte ist für die Immunhistochemie besonders geeignet, da diese einen sehr guten Antigenerhalt gewährleisten.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung fanden hochgereinigte polyklonale Antikörper Verwendung, die bereits mehrfach auf ihre Spezifität überprüft worden waren (Becker et al., 1986 a, b, c; Schuppan et al., 1985, 1986 a, b).

Die indirekte Immunfluoreszenz ist bei Verwendung polyklonaler Antikörper die Methode der Wahl, da andere Verfahren wie die Alkalische Phosphatase - Anti-Alkalische Phosphatase (APAAP)- oder die Peroxydase - Anti-Peroxydase Technik wegen ihrer relativ hohen Sensitivität (Cordell et al., 1984) durch die enzymatische Farbreaktion zur Darstellung von feinfilamentären Proteinen nicht geeignet sind.

Frühere lichtmikroskopische Untersuchungen zum oralen L. p. widmeten sich vor allem der Beschreibung des entzündlichen Bindegewebsinfiltrates und der epithelialen Alteration (Cooke et al., 1954; Shklar & McCarthy, 1961; Herrmann, 1963, 1970; Andreasen, 1968 b). Aber auch der Zustand der Basalmembranzone beim L. p. war von Interesse. Duplikaturen und Verbreiterungen, sowie BM-Fragmente im oberen Stratum proprium wurden vielfach beschrieben (Pullon, 1969; Ebner & Gebhart, 1972; Tyldesley & Appleton, 1973; El-Labban & Kramer, 1975; Shklar et al., 1978) und als Folge wiederholter Zerstörung für überstürzte Reparaturversuche gehalten (Scully & El-Kom, 1985). Neue immunhistochemische Untersuchungen zum L. p. konzentrierten sich auf die Verteilung der Bestandteile des zellulären Immunsystems, da man sich hiervon Hinweise auf Ätiologie und Pathogenese dieser dem erweiterten Formenkreis der Autoimmunerkrankungen zugehörenden Dermatose erhoffte (Bhan et al., 1981; McMillan et

al., 1981; Becker et al., 1983 a, b; Matthews et al., 1984).

Die hier vorgelegten Ergebnisse lassen sich zu zwei Hauptaussagen zusammenfassen:

1. Beim oralen L. p. wurde im Bindegewebsstroma in Abhängigkeit der Lage und Intensität des entzündlichen Infiltrates ein zum Teil erheblicher Verlust der Fluoreszenzmarkierung aller untersuchten Bindegewebsproteine gefunden.

2. Beim oralen L. p. zeigten subepitheliale BM-Proteine in Abhängigkeit der Intensität des entzündlichen Bindegewebsinfiltration eine bisweilen enorme Zunahme der Fluoreszenz, die sich durch Verbreiterung und Abtropfungsmuster der BM darstellt.

Normalerweise werden die Bestandteile der Haut und Schleimhaut ständig synthetisiert, da ein Gleichgewicht zwischen Abbau und Neubildung besteht. Dieses Gleichgewicht kann aber beispielsweise durch entzündliche Prozesse gestört werden, die mit zum Teil erheblichen Kollagendestruktionen einhergehen (Page & Schröder, 1973). Abbau von Kollagen und anderen interstitiellen Proteinen scheint auch beim oralen L. p. vorzuliegen, da bei allen im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Bindegewebs-Antikörpern ein Verlust der Markierung im Fluoreszenzpräparat festgestellt wurde, der mit der Anwesenheit von Entzündungszellen unmittelbar korrelierte.

Verminderung oder gar Verlust der Fluoreszenzmarkierung kann durchaus als Maßstab für die Degradierung des jeweils untersuchten Proteins gelten. Dies gestattet der Vergleich mit Präparaten der normalen Mundschleimhaut.

Beim oralen L. p. zeigten Prokollagen Typ III, Kollagen Typ VI und Fibronectin in entzündlichen Bereichen eine ähnlich reduzierte Fluoreszenzmarkierung, die auf erheblichen Abbau schließen läßt. Von der Degradation besonders betroffen

war Undulin, das auf pathologische Veränderungen sehr heftig zu reagieren scheint. Im Übergangsgebiet vom gesunden zum veränderten Gewebe fand sich nicht ein intaktes Verteilungsmuster wie für Typ VI, sondern eine Fragmentierung der Undulinfibrillen Abb. 24).

Von Bedeutung ist, daß beim oralen L. p. auch Kollagen Typ V dem Abbau unterlag. Es ist bekannt, daß sowohl bei der Wundheilung, als auch bei entzündlichen Prozessen eine Zunahme von Kollagen Typ V beobachtet wird (Kurita et al., 1985; Narayanan et al., 1983, 1985). Kollagen Typ V soll Kollagenfasern vom Typ I und III überziehen und diese miteinander verbinden (Martinez-Hernandez et al., 1982). Da eine Zunahme dieses Kollagentyps beim oralen L. p. nicht gefunden wird, könnte man vermuten, daß reparative Vorgänge in diesem entzündlich veränderten Bindegewebe in nur sehr geringem Umfang stattfinden.

Auf einen antigenen Reiz pflegt der Körper mit Immunität oder allergischer Reaktion zu antworten. Beim oralen L. p. scheint es sich um eine allergische Antwort vom Spättyp zu handeln (Becker et al., 1983 a), d. h. sensibilisierte Lymphozyten reagieren mit einem Antigen. In mikroskopischen Schnitten zeigt eine derartige Reaktion ein typisches leukozytäres Infiltrat im Bindegewebe, das grundsätzlich aus zwei Klassen von Zellen besteht, nämlich solchen, die spezifisch mit dem Antigen reagieren und solchen, die an der zellulären Abwehr unspezifisch mitwirken (Resch, 1983).

Bezüglich der Charakterisierung und Aufgabenverteilung der Lymphozyten und ihrer Subpopulation, sowie der Makrophagen und Langerhanszellen konnten in den letzten Jahren große Fortschritte erzielt werden (Bhan et al., 1981; Becker et al., 1983 a, b; Vaes, 1985). Dabei gerieten vor allem die Makrophagen in den Mittelpunkt des Interesses, da sie im Bindegewebsmetabolismus eine Schlüsselrolle einzunehmen scheinen. Sensibilisierte T-Lymphozyten setzen bekanntlich Lymphokine frei, die auf Makrophagen wirken (MIF, MAF, MCF) (Sandritter,

1981). Makrophagen sind aber auch in der Lage, immunologische oder entzündliche Antigene selbständig zu erkennen und darauf zu reagieren. So wird eine spezifische und unspezifische Reaktion dieser Zellen hervorgerufen, die vor allem in Phagozytose, Zytotoxität und Sekretion biologisch wichtiger Produkte wie Kollagenase, Proteoglykanase und Elastase besteht. Darüber hinaus haben Makrophagen die Möglichkeit, Fibroblasten zu veranlassen, ebenfalls proteolytische Enzyme zu sezernieren, können aber auch Fibroblasten und andere Bindegewebszellen so stimulieren, daß diese neue Matrixkomponenten bilden (Huybrecht-Godin, 1985; Vaes, 1985).

Nach wie vor ist das Antigen, das die Immunreaktion beim L. p. hervorruft, unbekannt (Scully & El-Kom, 1985). Aus den hier vorgelegten Ergebnissen könnte man aber schließen, daß dieses Antigen nicht, wie von Shklar et al. (1978) angenommen wurde im Epithel, sondern im Stratum proprium lokalisiert ist, denn das Ziel der Entzündungszellen, das durch chemotaktische Mediatoren vermittelt wird, scheint subepithelial zu liegen. Ähnliche Vermutungen wurden bereits von Tyldesley (1974) geäußert, der eine mesodermale Ätiologie beim oralen L.p. vorschlug. Die hier vorgelegten Befunde lassen vermuten, daß im Bindegewebe lokalisierte Entzündungszellen dort destruktive Vorgänge verursachen, die sekundär Auswirkungen auf das benachbarte Epithel haben. Diese Auswirkungen scheinen aber nicht so ausgeprägt zu sein, daß das Epithel seiner Aufgabe, die BM-Produktion aufrechtzuerhalten, nicht mehr nachkommen kann. Das Epithel ist offenbar sogar bemüht, sich durch stark vermehrte BM-Produktion gegen das entzündliche Geschehen abzugrenzen, wie Abb. 6 und 7 eindrucksvoll zeigen.

Eine verdickte BM stellt als solche eine relativ unspezifische Veränderung dar, die beispielsweise auch bei membranöser Nephropathie oder Diabetes mellitus beobachtet wird (Martinez-Hernandez & Amenta, 1983). Selbst eine verbreiterte

BM vermag ihre Aufgabe nicht hinreichend zu erfüllen. Bei diabetischer Stoffwechsellage ist die Permeabilität der BM wegen reduzierter BM-1 Proteoglykansynthese erhöht und offenbar wird durch Überproduktion der anderen BM-Komponenten der vergebliche Versuch unternommen, die Permeabilität zu korrigieren (Szarfman et al., 1982). In diesem Zusammenhang scheint auch plausibel, warum beim oralen L. p. H & E - Referenzschnitte subepithelial eine schmale, auffallend eosinophile Schicht aufweisen (Abb. 3), die in eine blassere Zone übergeht und im tieferen Bindegewebe wieder stärker eosinophil erscheint: Kollagen ist eosinophil und der subepitheliale Streifen entspricht der verbreiterten BM, wie dies schon von El-Labban & Kramer (1975) vermutet worden war. Die blassere Zone korreliert mit dem Bereich der Destruktion und des Kollagenmangels und schließlich finden sich im tieferen Bindegewebe weitgehend normale Verhältnisse.

Erste Anzeichen eines L. p. zeigen sich im basalen Epithel und dessen Nähe (Scully & El-Kom, 1985). Shklar et al. (1978) fanden, daß die primär pathologische Alteration beim oralen L. p. in der Zerstörung der desmosomalen Elemente liegt, die das Epithel mit der BM und die Epithelzellen untereinander verbindet, was die Einwandung von Entzündungszellen in das Epithel erleichtert. Nun ist es aber denkbar, daß eine Verschiebung des normalerweise vorhandenen Stoffwechselgleichgewichtes im Bindegewebe zu Gunsten des Abbaus sich ultrastrukturell zuerst im benachbarten Epithel manifestiert: Das Epithel mit seinem vergleichsweise schlichten morphologischen Aufbau reagiert damit auf Vorgänge, die primär im Bindegewebe ablaufen, dort aber auf Grund des komplexen Zusammenwirkens vieler Komponenten noch maskiert bleiben, da sie nur immunhistochemisch nachweisbar sind.

Die allgemein beobachtete Alteration des Epithels und insbesondere die der basalen Keratinozyten kann unter dem Aspekt der destruktiven Vorgänge im subepithelialen Bereich beispielhaft mit Menschen verglichen werden, die sich auf

einer Brücke befinden und durch deren Zusammenbruch, obwohl nicht ursächlich beteiligt und ohne ihr Zutun, zu Schaden kommen.

Herrmann (1963) stellte fest, daß das entzündliche Infiltrat des Bindegewebes im allgemeinen auf die Stellen mit Epithelveränderungen beschränkt sei. Nach den hier vorgelegten Befunden könnte diese Aussage umgestellt werden und dann lauten: Die Epithelveränderungen beschränken sich im allgemeinen auf die Bereiche mit intensiver Destruktion der extrazellulären Bindegewebsmatrix.

Normale Haut und Schleimhaut, aber auch krankhafte Veränderungen wie Leukoplakie, Pemphigus vulgaris, Lupus erythematodes und Ekzeme weisen eine gleichmäßige lineare BM auf (Abell & Ramnarain, 1975). Das ist beim oralen L. p. insbesondere in Gebieten, die ein entzündliches Bindesgewebsinfiltrat aufweisen anders. Dies bedeutet, daß differentialdiagnostische Schwierigkeiten, die sich bei der Abgrenzung eines wenig typischen oralen L. p. gegen leukoplakische Veränderungen oder eines bullösen L. p. gegenüber einem Pemphigus vulgaris auftreten können, relativ einfach ausgeräumt werden können. Dies ist dadurch möglich, daß man mit nur einem Antikörper gegen die BM den Zustand derselben untersucht: Zeigt die BM normale Fluoreszenz, so spricht dies gegen die Diagnose eines Lichen planus.

In der Charakterisierung von Kollagen und anderen Bindegewebsproteinen wurden in letzter Zeit große Fortschritte gemacht. Dies könnte für weitere Untersuchungen ausgenützt werden. Von großem Interesse wären immunnistochemische Doppelmarkierungen, die einen unmittelbaren Vergleich der entsprechenden Verteilungsmuster erlauben.

Weitere ultrastrukturelle Untersuchungen könnten dazu dienen, sowohl an nicht markierten Präparaten des oralen L. p., als auch an solchen, die mit Antikörpern beschichtet wurden, neue Befunde bezüglich der Morphologie, der Atiologie und der Pathogenese dieser Erkrankungen zu stellen.

Große Aufmerksamkeit muß weiterhin den Makrophagen geschenkt werden, die eine Schlüsselrolle für zahlreiche zelluläre Interaktionen und den Bindegewebsmetabolismus einzunehmen scheinen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Durch indirekte Immunfluoreszenz wurde in der vorliegenden Arbeit das Verteilungsmuster von kollagenen und nichtkollagenen Bestandteilen beim oralen Lichen planus untersucht und mit normaler Mundschleimhaut verglichen.

Da vergleichbare Untersuchungen für den oralen Lichen planus bisher nicht vorlagen, konnte erstmalig gezeigt werden, daß immunhistochemisch im oberen Stratum proprium in Korrelation zum entzündlichen Bindegewebsinfiltrat ein zum Teil erheblicher Abbau der untersuchten Proteine stattfand, während die subepitheliale Basalmembran durch Verbreiterung imponierte.

Diese Ergebnisse gaben Anlaß zu der Vermutung, daß das ursächliche Antigen beim Lichen planus im oberen Stratum proprium lokalisiert ist und dort ablaufende destruktive Vorgänge das Epithel schädigen, welches sich wiederum durch überkompensierte Basalmembranproduktion zu schützen sucht.

Da beim oralen Lichen planus die Basalmembran erheblichen Veränderungen unterliegt, ist deren immunhistochemischer Nachweis klinisch relevant. Denn anhand standardisierter Methoden lassen sich differentialdiagnostische Schwierigkeiten schnell ausräumen, da die Alteration der Basalmembran neben bindegewebiger Destruktion für den oralen Lichen planus pathognomonisch ist.

Bezüglich der Ätiologie des Lichen planus sind weitere Untersuchungen notwendig, die dann möglicherweise therapeutische Konsequenzen aufzeigen konnen.

ABBILDUNGEN

Abb. 1: Lichen planus (L. p.) reticularis der Wangenschleimhaut mit atrophischer Mukosa und Wickham'schen Streifen

Abb. 2: L. p. reticularis mit deutlicher Ausbildung der Wickham'schen Streifen an der buccalen Mukosa

Abb. 3: H & E Färbung der Biopsie zu Abb. 1. Dichtes, bandförmiges entzündliches Infiltrat im oberen Stratum proprium. Subepithelial deutliche Ausbildung eines eosinophilen Bandes (Pfeile). x 200

Abb. 4: H & E Färbung der Biopsie zu Abb. 2. Hyperorthokerathose, Akanthose mit leichter Degeneration der Basalzellen und entzündlichem Infiltrat im Bindegewebe. x 80

Abb. 5: Kollagen Typ IV (7 S-Domäne), normale Mundschleimhaut. Kontinuierliche und gleichmäßige Darstellung der subepithelialen Basalmembran (BM), (Pfeile). Die Pfeilspitzen markieren die BM zahlreicher Blutgefäße im Stroma. Das interstitielle Bindegewebe ist deutlich negativ. x 200

Abb. 6: Kollagen Typ IV (7 S-Domäne), Referenzschnitt zu Abb. 3: Deutlich verbreiterte Darstellung der BM mit kerzenwachsartigem Tropfmuster. x 200

Abb. 7: Kollagen Typ IV (7 S-Domäne). Verbreiterte, diffuse Markierung von BM-Material. Vereinzelt Unterbrechungen der Markierung (Pfeile). Im Bindegewebe zahlreiche Gefäße (Pfeilspitze). x 200

Abb. 8: Kollagen Typ IV (NC 1 Domäne), Referenzschnitt zu Abb. 3: Diffus aufgefächerte und verbreiterte BM-Darstellung mit Abtropfung des BM-Materials in das obere Stratum proprium. x 200

Abb. 9: Kollagen Typ IV (NC 1 Domäne), Referenzschnitt zu Abb. 3: Vereinzelt ließen sich Bereiche mit mehrfachen Kontinuitätsunterbrechungen der BM beobachten (Pfeile). x 200

Abb. 10: Laminin, Referenzschznitt zu Abb. 3: Die subepitheliale BM zeigt Verbreiterung, gelegentlich Abtropfung, selten Perforation. Im Vergleich zu Typ IV ist die Intensität der Fluoreszenz der subepithelialen BM hier deutlich geringer. x 200

Abb. 11: Prokollagen Typ III, Referenzschnitt zu Abb. 3: Intensiver Verlust der Pro III Markierung im oberen Stratum proprium mit noch einzelnen, deutlich aufgefächerten Fibrillen. Direkt subepithelial konnte eine intensive, schmale Fluoreszenz beobachtet werden. Im tieferen Bindegewebe ist die Fluoreszenz mit der normalen Mundschleimhaut vergleichbar. Im oberen Bindegewebe war eine intensive Markierung der Adventitia von Gefäßen zu beobachten (Pfeile). x 125

Abb. 12: Prokollagen Typ III. Erheblicher Verlust der Pro III Markierung im tieferen Stratum proprium in Korrelation zum ausgeprägt entzündlichen Infiltrat in diesem Bereich. x 125

Abb. 13: Kollagen Typ V Markierung an normaler Mundschleimhaut. Intensive, filamentäre Fluoreszenz. Die subepitheliale BM ist angedeutet. Deutlich positive Reaktion konnte in der Intima von Gefäßen festgestellt werden (Pfeile). x 200

Abb. 14: Kollagen Typ V, Referenzschnitt zu Abb. 4: Intensiver Verlust der Typ V Markierung vor allem im tieferen Bindegewebe. Direkt subepithelial fanden sich noch zahlreiche deutlich dargestellte Fibrillen. x 250

Abb. 15: Kollagen Typ V: Verlust der Typ V Markierung. Vereinzelt ließ sich das typisch fibrilläre Muster beobachten (Pfeile). Auffallend waren hier zahlreiche kleinere Kollagenfragmente mit sehr intensiver Fluoreszenz (Pfeilspitze). x 250

Abb. 16: Kollagen Typ VI Markierung an normaler Mundschleimhaut. Dieser Kollagentyp zeigte ein weitgehend amorphes Verteilungsmuster im gesamten interstitiellen Bindegewebe. Direkt subepithelial ist die Fluoreszenz besonders ausgeprägt. x 250

Abb. 17: Kollagen Typ VI, Referenzschnitt zu Abb. 3: Intensiver Verlust der Markierung im oberen Bindegewebsstroma in Korrelation zum entzündlichen Infiltrat. Unmittelbar subepithelial konnte eine weitgehend intakte Fluoreszenz beobachtet werden. Das Muster im tieferen Bindegewebe entsprach dem der normalen Mundschleimhaut. (E = Epithel) x 200

Abb. 18: Kollagen Typ VI. Verlust der Markierung ausschließlich begrenzt auf zwei Bindegewebspapillen. Hervorzuheben ist bei dieser Aufnahme die verstärkte Fluoreszenz in der Media und Adventitia von Gefäßen (Pfeile). x 200

Abb. 19: Fibronectinmarkierung an normaler Mundschleimhaut. Granuläre Markierung des interstitiellen Bindegewebes, besonders ausgeprägt im Bereich von Gefäßwänden (Pfeile). (E = Epithel) x 315

Abb. 20: Fibronectin, Referenzschnitt zu Abb. 3: Intensiver Verlust der Fibronectin-Markierung im Bereich des entzündlichen Infiltrates. x 200

Abb. 21: Fibronectin. Im oberen Stratum proprium Verminderung der Fibronectin-Markierung, während im tiefen Bindegewebe das typische Muster weitgehend erhalten war. x 125

Abb. 22: Undulin, normale Mundschleimhaut. Undulin-Markierung im tieferen Bindegewebe. Deutliches Muster mit paralleler Anordnung der Einzelfibrillen. x 500

Abb. 23: Undulin. Fast vollständiger Verlust der Undulin-Markierung im subepithelialen Bindegewebe. Im Bereich der Adventitia von Gefäßen war eine noch schwache Fluoreszenz feststellbar (Pfeile). x 250

Abb. 24: Auch im Umfeld des entzündlichen Infiltrates des Bindegewebes fehlt das typische Undulinmuster (vergleiche Abb. 22). Auffallend sind hier kurze Fragmente mit paralleler Zuordnung der Einzelfibrtillen (Pfeil). x 250

Abbildung 1:

Abbildung 2:

Abbildung 3:

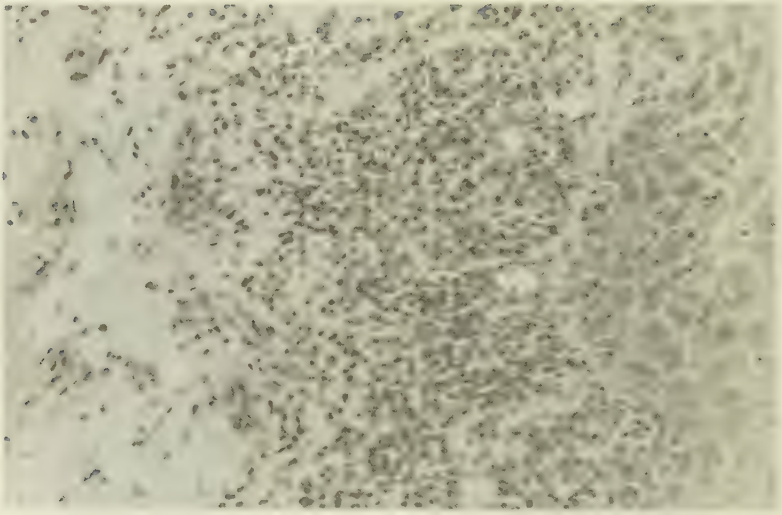

Abbildung 4:

Abbildung 5:

Abbildung 6:

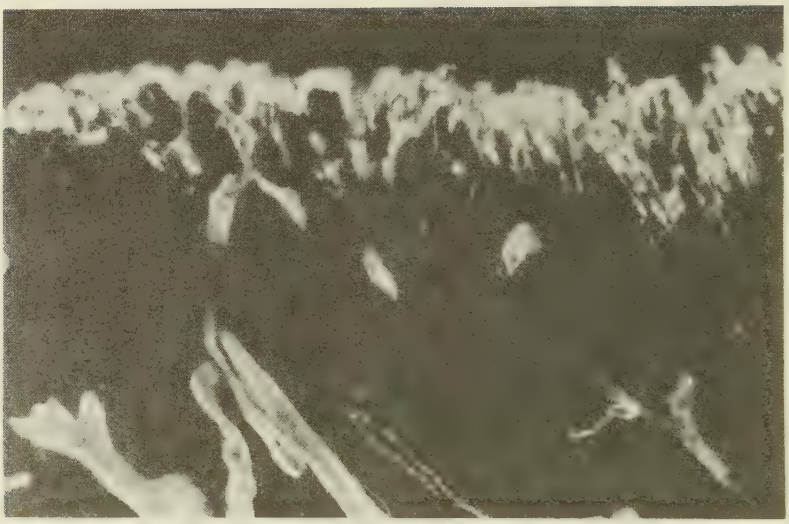

Abbildung 7:

Abbildung 8:

Abbildung 9:

Abbildung 10:

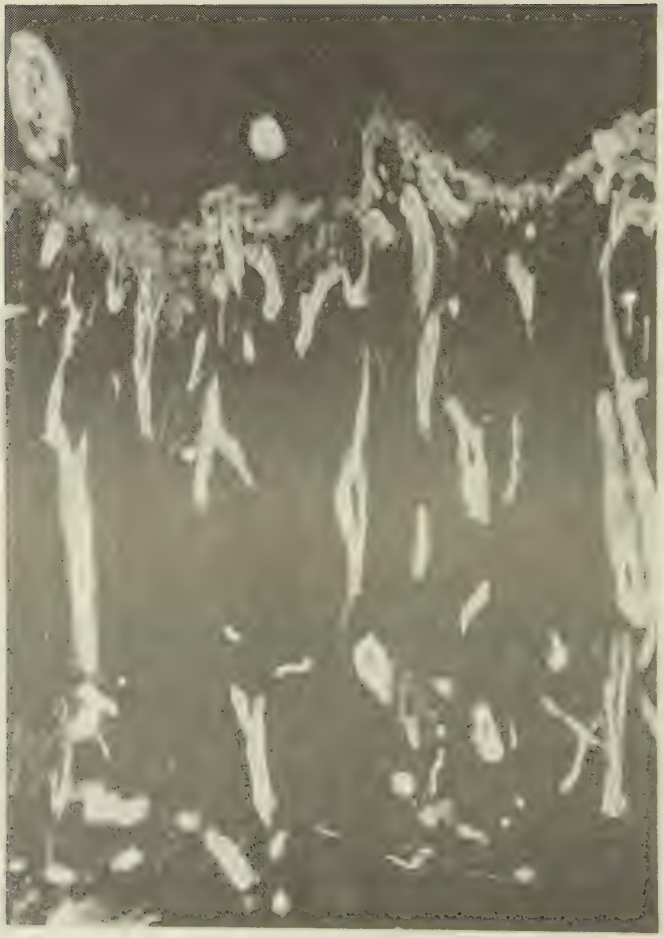

Abbildung 11:

Abbildung 12:

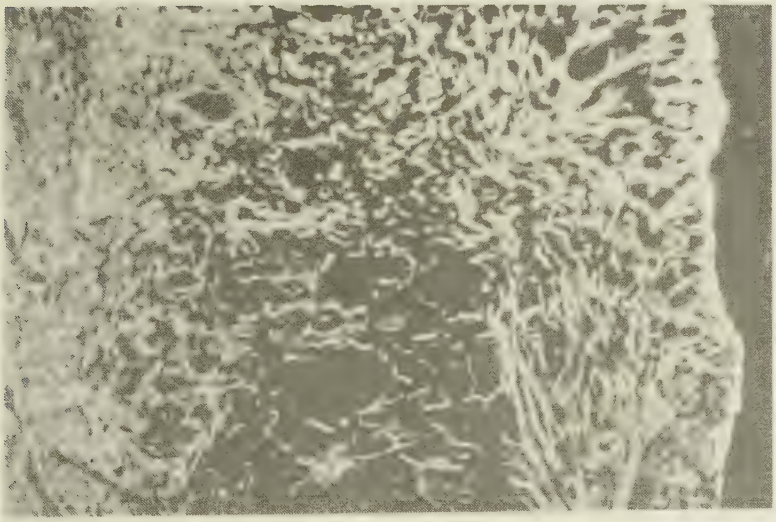

Abbildung 13:

Abbildung 14:

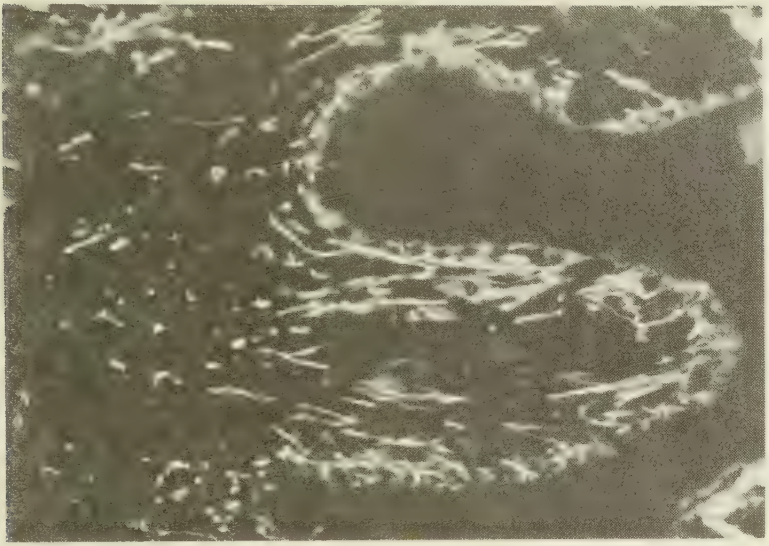

Abbildung 15:

Abbildung 16:

Abbildung 17:

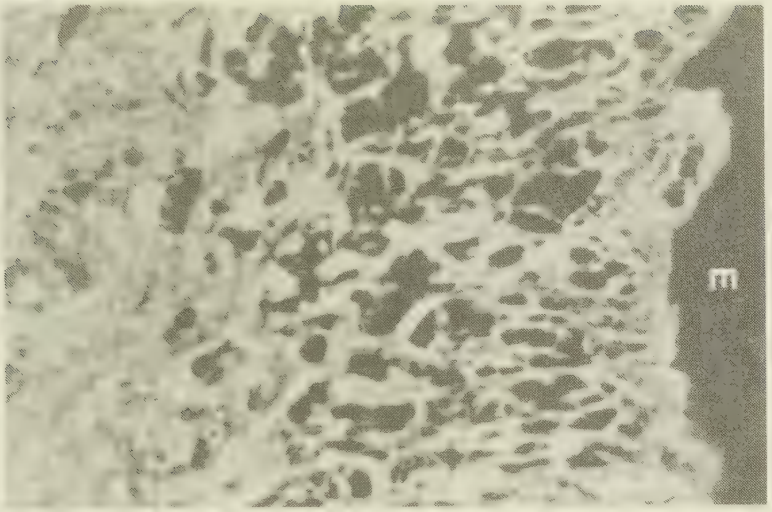

Abbildung 18:

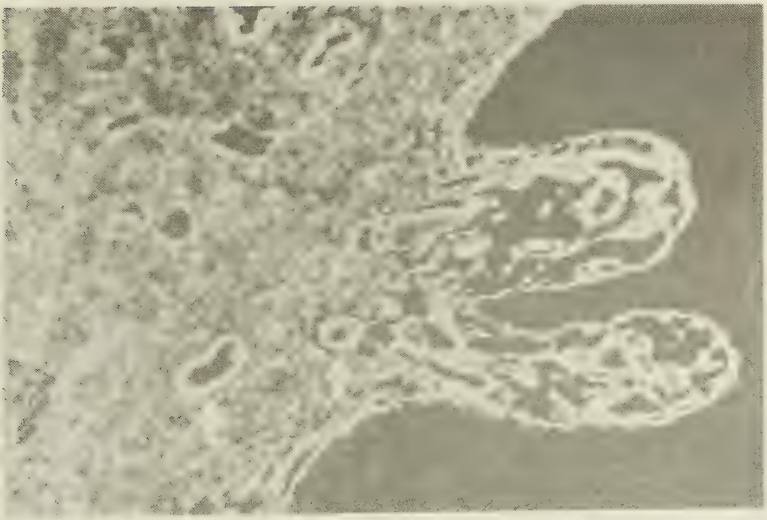

Abbildung 19:

Abbildung 20:

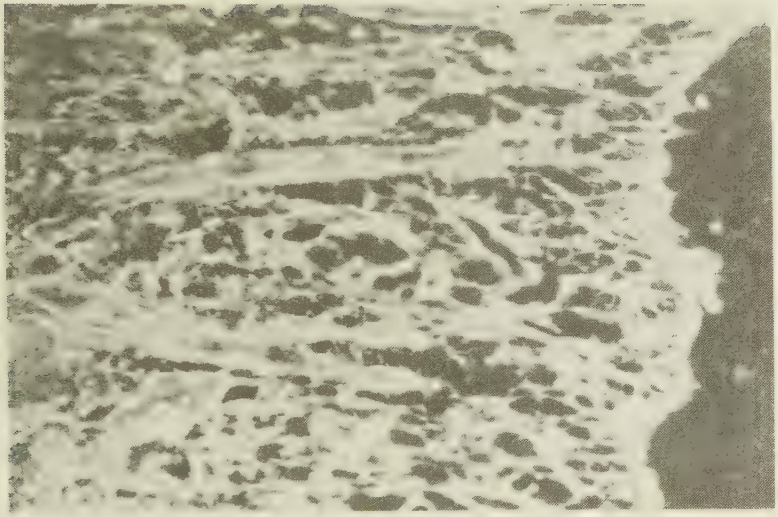

Abbildung 21:

Abbildung 22:

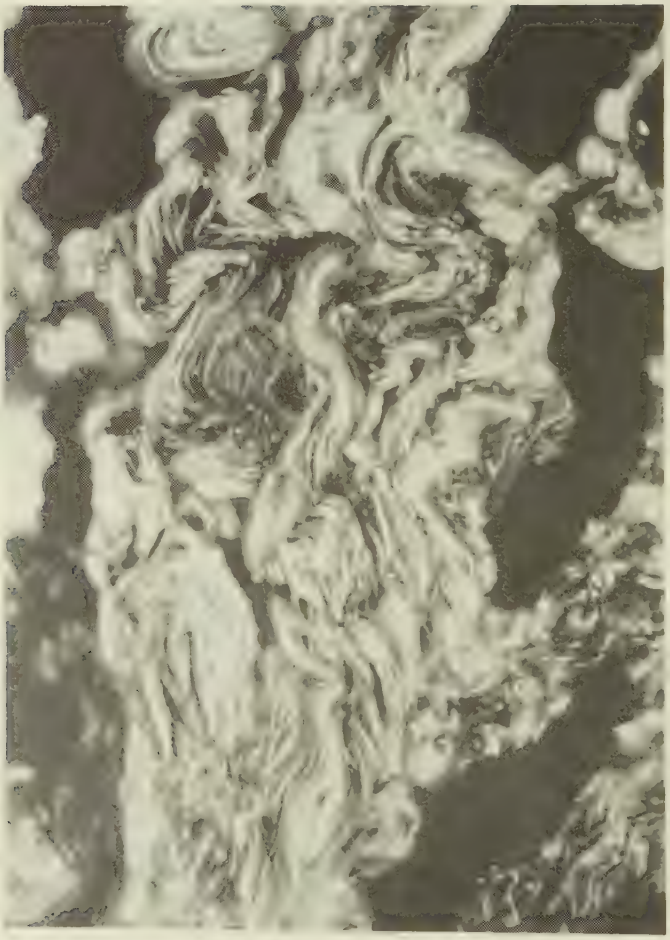

Abbildung 23:

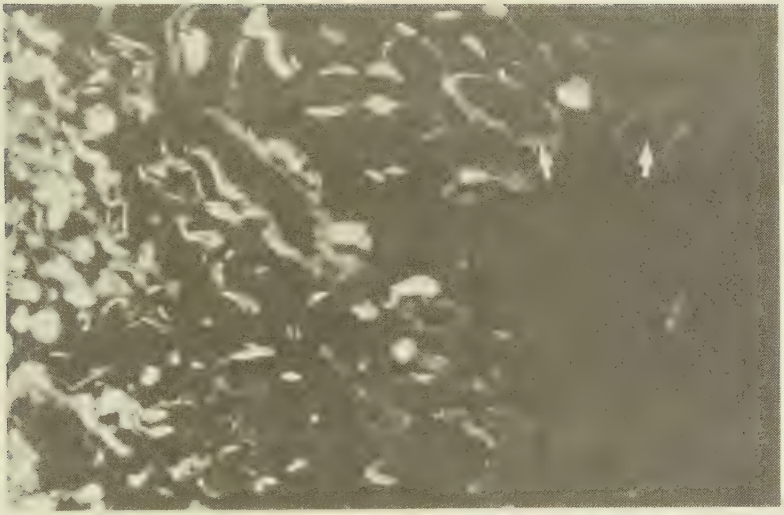

Abbildung 24:

7. LITERATURVERZEICHNIS

Abell, E.; Ramnarain, D.: Epidermal antigens in lichen planus
Brit. J. Dermatol. 92: 631 - 636 (1975)

Amenta, P. S.; Clark, C. C.; Martinez-Hernandez, A.: Deposition of Fibronectin and Laminin in the Basement Membrane of the Rat Parietal Yolk Sac: Immunhistochemical and Biosynthetic Studies
J. Cell Biol. 96: 104 - 111 (1983)

Andreasen, J. O.: Oral lichen planus. 1. A clinical evaluation of 115 cases
Oral Surg. 25: 31 - 42 (1968 a)

Andreasen, J. O.: Oral lichenplanus. 2. A histologic evaluation of ninety-seven cases
Oral Surg. 25: 158 - 166 (1968 b)

Aumailley, M.; von der Mark, H.; Timpl, R.: Size and domain structure of collagen VI produced by cultured fibroblasts
FEBS Lett. 182: 499 - 502 (1985)

Ayad, S.; Evans, H.; Weiss, J. B.; Holt, L.: Type VI Collagen but not Type V Collagen is Present in Cartilage
Collagen Rel. Res. 4: 165 - 168 (1984)

Becker, J.; Löning, Th.; Reichart, P.; Hartmann, N.: Oral lichen planus: characterization of immunocompetent cells with hybridoma antibodies
J. Oral Pathol. 12: 117 - 123 (1983 a)

Becker, J.; Löning, Th.; Reichart, P.; Becker, W.M.: Zum Nachweis von Lymphozytenpopulation und Langerhans-Zellen beim oralen Lichen planus und der Leukoplakie mit monoklonalen Antikörpern
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. **7**: 225 - 231 (1983 b)

Becker, J.; von Keyserlingk-Eberius, H.; Neukam, F.W.; Marggraf, E.; Reichart, P.: Zur Verteilung von Histokompatibilitätsantigenen bei Patienten mit oralem Lichen planus
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. **9**: 181 - 183 (1985 a)

Becker, J.; Behem, J.; Löning, Th.; Reichart, P.; Geerlings, H.: Quantitative analysis of immunocompetent cells in human normal oral and uterine cervical mucosa, oral papillomas and leukoplakies
Arch. Oral. Biol. **30**: 257 - 264 (1985 b)

Becker, J.; Schuppan, D.; Hahn, E. G.; Albert, G.; Reichart, P.: The immunohistochemical distribution of collagens type IV, V, VI and of laminin in the human oral mucosa
Arch. Oral. Biol. **31**: 179 - 186 (1986 a)

Becker, J.; Schuppan, D.; Albert, G.; Reichart, P.; Hahn, E. G.: Zur Verteilung der Basalmembranbestandteile Kollagen Typ IV und Laminin in oralen Plattenepithelkarzinomen
Dtsch. Z. Mund-KieferGesichts-Chir. **10**: 278 - 282 (1986 b)

Becker, J.; Schuppan, D.; Benzian, H.; Bals, T.; Hahn, E. G.; Cantaluppi, C.; Reichart, P.: Immunohistochemical Distribution of Collagens Types VI, V and VI and of Procollagens Types I and III in Human Alveolar Bone and Dentine
J. Histochem. Cytochem. Im Druck. (1986 c)

Bhan, A. K.; Harrist, T. J.; Murphy, G. F.; Mihm, M. C. Jr.: T cell subsets and Langerhans cells in lichen planus: insitu characterization using monoclonal antibodies
Br. J. Dermatol. **105:** 617 - 622 (1981)

Black, M. M.: The pathogenesis of lichen planus
Br. J. Dermatol. **86:** 302 - 305 (1982)

Bork, K.; Hoede, N.; Korting, G. W.: Symptome und Krankheiten der Mundschleimhaut und der Perioralregion
F. K.Schattauer Verlag Stuttgart - New York (1984)

Bornstein, P.: Structurally distinct collagen types
Ann. Rev. Biochem. **49:** 957 - 1003 (1980)

Bos, I. R.; Burkhardt, A.: Interepithelial cells of the oral mucosa
J. Oral Pathol. **9:** 65 - 81 (1980)

Buddecke, E.: Grundriß der Biochemie. 7. Auflage
Walter de Gruyter Berlin - New York (1985)

Burgeson, R. E.: Genetic heterogeneity of collagens
J. Invest. Derm. **79:** Suppl. 1, 25 - 30 (1982)

Cantaluppi, C.; Schuppan, D.; Hahn, E. G.: Isolation and characterization of procollagens type I and III from newborn monkey skin
(In Vorbereitung) (1986)

Cooke, B. E. D.; Eng, C. S.; Lond, C. P.: The oral manifestation of lichen planus: 50 cases
Br. Dent.J. **96:** 1 - 9 (1954)

Cordell, J.; Falini, B.; Erber, W. N.; Ghosh, A. K.; Abdulaziz, Z.; MacDonald, S.; Pulford, K.; Stein, H.; Mason, D. Y.: Immunoenzymatic Labeling of Monoclonal Antibodies Using Immune Complexes of Alkaline Phosphatase and Monoclonal Anti-alkaine Phosphatase (APAAP Complexes).
J. Histochem. Citochem. **32:** 219 - 229 (1984)

Courtoy, P. J.; Timpl, R.; Farquhar, M. G.: Comparative distribution of laminin, type IV collagen, and fibronectin in the rat glomerulus
J. Histochem. Cytochem. **30:** 874 - 886 (1982)

Csato, W.; Merker, H. J.: Production and formation of the basement membrane in embryonic tissues of the mouse
Cell Tissue Res. **228:** 85 - 98 (1983)

Ebner, H.; Gebhart, W.: Die Ultrastruktur der Epidermis-Cutis-Grenze beim Lichen ruber planus
Arch. Derm. Forsch. **245:** 285 - 294 (1972)

Ebner, H.; Gebhart, W.: Epidermal changes in lichen planus
J. Cutan. Pathol. **3:** 167 - 174 (1976)

Ebner, H.; Jurecka, W.: Cell proliferation in the lichen planus infiltrate
J. Cutan. Pathol. **4:** 185 - 190 (1977)

El-Labban, N. G.; Kramer, I. R. H.: Light and electron microscopic study oof liquefaction degeneration in oral lichen planus
Arch. Oral Biol. **20:** 653 - 657 (1975)

El-Labban, N. G.: An ultrastructural study of langerhans cells crossing the basal complex in oral lichen planus
Arch. Oral Biol. **22:** 629 - 631 (1977)

Ellis, F. A.: Histopathology of lichen planus based on analysis of one hundred biopsy specimens
J. Invest. Dermatol. **48:** 143 - 148 (1967)

Engvall, E.; Hessle, H.; Klier, G.: Molecular assembly, secretion and matrix deposition of type Vi collagen
J. Cell Biol. **102:** 703 - 710 (1986)

Fleischmajer, R.; Dessau, W.; Timpl,R.; Krieg,T.; Luderschmidt, C.; Wiestner, M: Immunofluorescence Analysis of Collagen, Fibronectin, and Basement Membrane Protein in Scleroderma Skin
J. Invest.Dermatol. **75:** 270 - 274 (1980)

Furthmayr, H.; Timpl, R.: Immunochemistry of Collagens and Procollagens
Int. Rev. Connect. Tissue Res. **7:** 61 - 99 (1976)

Furthmayr, H.; Roll, F. J.; Madri, J. A.; Foellner, H.: Composition of Basement Membranes as Viewed With the Electron Microscope
In: New Trends in Basement Membrane Research. (1982) (Kühn, Schöne and Timpl eds.) Raven Press, New York, 31 - 48

Garbi, C.; Wollman, S. H.: Basal Lamina Formation of Thyroid Epithelia in Separated Follicles in Suspension Culture
J. Cell Biol. **94:** 489 - 492 (1982)

Glanville, R. W.; Voss, T.; Kühn, K.: A Comparison of the Flexibility of Molecules of Basement Membrane and Interstitial Collagens
In: New Trends in Basement Membrane Research (1982), (Kühn, Schöne and Timpl eds.). Raven Press, New York, 69 - 77

Grinnell, F.: Fibronectin and Wound Healing
J. Cell. Biochem. **26:** 107 - 116 (1984)

Hashimoto, K.; Dibella, R. J.; Shklar, G.; Lever, W. F.: Electron microscopic studies of oral lichen planus
G. ital. Derm. **107:** 765 - 788 (1966)

Herrmann, D.: Oraler Lichen ruber ohne Hautbeteiligung
Med. Diss., Berlin 1962

Herrmann, D.: Lichen ruber planus der Mundschleimhaut
Dtsch. zahnärztl. Z. **18:** 346 - 363 (1963)

Herrmann, D.: Zur Diagnose und Differentialdiagnose des Lichen ruber planus der Mundschleimhaut
Dtsch. zahnärztl. Z. **25:** 977 - 985 (1970)

Hornstein, O. P.; Holländer, K.; Simon, M. jr.: Klinische Feldstudie zur Häufigkeit und topographischen Verteilung des Lichen ruber einschließlich der Frage ätiologischer Einflußfaktoren
Z. Hautkr. **55:** 1562 - 1568 (1980)

Huybrechts-Godin, G.; Peeters-Joris, C.; Vaes, G.: Partial characterization of the macrophage factor that stimulates fibroblasts to produce collagenase and to degrade collagen
Biochem. Biophys. Acta **846:** 51 - 54 (1985)

Jablonska, S.; Chorzelski, T. P.,; Beutner, E. H.: Utilization of Immunofluorescence in the Diagnosis of Bullous Diseases, Lupus Erythematosus, and Certain Dermatoses
Arch. Dermatol. **111:** 371 - 381 (1975)

Jungermann, K.; Möhler, H.: Biochemie. 1. Auflage
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo (1984)

Kefalides, N. A.; Alper, R.; Clark, C. C.: Biochemistry and Metabolism of Basement Membranes
Int. Rev. Cytol. **61:** 167 - 228 (1979)

Kleinman, H. K.; Cannon, F. B.; Laurie, G. W.; Hassell, J. R.; Aumailley, M.; Terranova, V. P.; Martin, G. R.; DuBois-Dalcq, M.: Biological Activities of Laminin
J. Cell. Biochem. **27:** 317 - 325 (1985)

Kurita, K.; Hashimoto, Y.; Takei, T.; Kawai, T.; Hayakawa, T.: Changes in Collagen Types During the Healing of Rabit Tooth Ectraction Wounds
J. Dent. Res. **64:** 28 - 32 (1985)

Lacy, M. F.; Reade, P. C.; Hay, K. D.: Lichen planus: A theory of pathogenesis
Oral Surg. **56:** 521 - 526 (1983)

Laurie, G. W.; Leblond, C. P,.; Cournil, I.; Martin, G. R.: Immunohistochemical Evidence for the Intracelular Formation of Basement Membrane Collagen (Type IV) in Developing Tissues
J. Histochem. Cytochem. **28:** 1267 - 1274 (1980)

Laurie, G. W.; Leblond, C. P.; Martin, G. R.: Localization of Type IV Collagen, Laminin, Heparan Sulfate Proteoglycan, and Fibronectin to the Basal Lamina of Basement Membranes
J. Cell Ciol. **95:** 340 - 344 (1982)

Leonhardt, H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. 7. Auflage
G.Thieme Verlag Stuttgart (1985)

Leu, F. J.; Engvall, E.; Damjanov, I.: Heterogeneity of Basement Membranes of the Human Genitourinary Tract Revealed by Sequential Immunofluorescence Staining with Monoclonal Antibodies to Laminin
J. Histochem. Cytochem. **34:** 483 - 389 (1986)

Löning, Th.: Immunpathologie der Mundschleimhaut
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York (1984)

Madri, J. A.; Roll, F. J.; Furthmayr, H.; Foidart, J.: Ultrastructural Localization of Fibronectin and Laminin in the Basement Membranes of the Murine Kidney
J. Cell Biol. **86:** 682 - 687 (1980)

Martinez-Hernandez, A.; Gay, S.; Miller, E.J.: Ultrastructural Localization of Type V Collagen in Rat Kidney
J. Cell Biol. **92:** 343 - 349 (1982)

Martinez-Hernandez, A.; Amenta, P. S.: The Basement Membrane in Pathology
Lab. Invest. **18:** 656 - 671 (1983)

Matthews, J. B.; Scully, C. M.; Potts, A. J. C.: Oreal lichen planus: an immunoperoxidase study using monoclonal antibodies to lymphocyte subjects
Br. J. Dermatol. **111:** 587 - 595 (1984)

McClatchey, K. D.; Silverman, M. A. Jr.; Hansen, L. S.: Studies on oral lichen planus. III. Clinical and histological correlations in 213 patients
Oral Surg. **39:** 122 - 129 (1975)

McMillan, E. M.; Martin, D.; Wasik, R.; Everett, M. A.: Demontration in situ of "T" Cells and "T" Cell Subset in Lichen Planus using Monoclonal Antibodies
J. Cutan. Path. **8:** 228 - 234 (1981)

Miekka, S. L.: Ingham, K. C.; Menache, D.: Rapid methode for isolation of human plasma fibronectin

Thromb. Res. **27:** 1 - 14 (1982)

Miller, E.J.: Recent Information on the Chemistry of the Collagens

In: The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues

Edited by Butler, T.W. (1984)

Murti, P. R.; Daftary, D. K.; Bhonsle, R. B.; Gupta, R. P.C, Mehta, F. S.; Pindborg, J. J.: Malignant potential of oral lichen planus: observations in 722 patients from India

J. Oral Pathol. **15:** 71 - 77 (1986)

Nagata, H.; Ueki, H.; Moriguchi, T.: Fibronectin

Arch. Dermatol. **121:** 995 - 999 (1985)

Narayanan, A. S.; Engel, D.; Page, R. C.: The Effect of Chronic Inflammation on the Composition of Collagen Types in Human Connective Tissue

Coll. Rel. Res. **3:** 323 - 334 (1983)

Narayanan, A. S.; Clagett, J. A.; Page, R. C.: Effect of Inflammation on the Distribution of Collagen Types I, III, IV, and V and VI and Type I Trimer and Fibronectin in Human Gingiva

J. Dent. Res. **64:** 1111 - 1116 (1985)

Neumann-Jensen, B.; Holmstrup, P.; Pindborg, J. J.: Smoking habits of 611 patients with oral lichen planus

Oral Surg. **43:** 410 - 415 (1977)

Nowack, H.; Gay, S.; Wick, G.; Becker, U.; Timpl, R.: Preparation and use in immunohistology of antibodies specific for type I and type III collagen and procollagen

J. Immunol. Meth. **12:** 117 - 124 (1976)

Page, R. C.; Schroeder, H. E.: Biochemical Aspects of the Connective Tissue Alterations in Inflammatory Gingival and Periodontal Disease
Int. Dent. J. 23: 455 - 469 (1973)

Proctor, R. A.; Textor, J. A.; Vann, J. M.; Mosher, D. F.: Role of Fibronectin in Human Monozyte and Makrophage Bactericidal Activity
Infect. Immun. 47: 629 - 637 (1985)

Pullon, P. A.: Ultrastructure of oral lichen planus
Oral Surg. 28: 365 - 371 (1969)

Rao, C. N.; Marqulies, I. M. K.; Liotta, L. A.: Binding domain for laminin on type IV collagen
Biochem. Biophys. Res. Commun. 128: 45 - 52 (1985)

Resch, K.: Zelluläre Immunreaktion
In: Immunologie. Hrsg. Vorlaender, K.
G.Thieme Verlag Stuttgart-New York (1983)

Risteli, J.; Bächinger, H. P.; Engel, J.; Furthmayr, H.; Timpl, R.: 7-S Collagen: Characterization of an Unusual Basement Membrane Structure
Eur. J. Biochem. 108: 239 - 250 (1980)

Risteli, J.; Timpl, R.: Isolation and characterization of pepsin fragments of laminin from human placental and renal basement membranes
Biochenm. J. 193: 749 - 755 (1981)

Ruoslahti, E.; Engvall, E.; Hayman, E. G.: Fibronectin: Current Concepts of its Structure and Functions
Coll. Res. 1:95 - 128 (1981)

Salonen, J.; Pelliniemi, L. J.; Foidart, J.-M.; Risteli, L.; Santti, R.: Immunohistochemical characterization of the basement membranes of the human oral mucosa
Archs oral Biol. 29: 363 - 368 (1984)

Sandritter, W.: Allgemeine Pathologie. 2. Auflage
F. K. Schattauer Verlag Stuttgart-New York

Schuppan, D.; Rühlmann, T.; Hahn, E. G.: Radioimmunoassay for Human Typ VI Collagen and its Application to Tissue and Body Fluids
Analyt. Biochem. 149: 238 - 247 (1985)

Schuppan, D.; Becker, J.; Böhm, H.; Hahn, E. G.: Immunofluorescent localization of type-V collagen as a fibrillar component of the interstitial connective tissue of human oral mucosa, artery and liver
Cell Tiss. Res. 243: 535 - 543 (1986 a)

Schuppan, D.; Cantaluppi, C.; Hahn, E. G.; Schuppan, F.; Becker, J.; Fleischmajer, R.; Wiedemann, H.; Kühn, K.: Undulin, a Glycoprotein of the Interstitial Connective Tissue
(in Vorbereitung) (1986 b)

Schuppan, D.; Besser, M.; Schwarting, R.; Hahn, E. G.: Radioimmunoassay for the Carboxy-terminal Cross-linking Domain of Type IV (Basement Membrane) Prokollagen in Body Fluids
J. Clin. Invest. 78: 241 - 248 (1986 c)

Scully, C.; El-Kom, M.: Lichen planus: review and update on pathogenesis
J. Oral Pathol. 14: 431 - 458 (1985)

Shklar, G.; McCarthy, P. L.: The oral lesions of lichen planus
Oral Surg. **14:** 164 - 181 (1961)

Shklar, G.: Lichen planus as an oral ulcerative disease
Oral Surg. **33:** 376 - 388 (1972)

Shklar, G.; Flynn, E.; Szabo, G.: Basement membrane alterations in oral lichen planus
J. Invest. Derm. **70:** 45 - 50 (1978)

Silverman, S. Jr.; Griffith, M.: Studies on oral lichen planus
Oral Surg. **37:** 705 - 710 (1974)

Sklavounou, A.; Laskaris, G.: Frequency of desquamative gingivitis in skin diseases
Oral Surg. **56:** 141 - 144 (1983)

Soames, J. V.; Southam, J. C.: Oral Pathology
Oxford University Press, Oxford-Tokyo-Toronto 1985

Spiro, R. G.; Parthasarathy, N.: Studies on the Proteoglycan of Basment Membrane
In: New trends in Basement Membrane Research. (Kühn, Schöne and Timpl eds.)
Raven Press, New York 87 - 98 (1982)

Stanley, J. R.; Woodley, D. T.; Katz, S. I.; Martin, G. R.: Structure and Function of Basement Membrane
J. Invest. Derm. **79:** 69 - 72 (1982)

Summerly, R.; Jones, E. W.: The Microarchitecture of Wickham's Striae
Tr. St. John's Hosp. Dermat. Soc. **50:** 157 - 161 (1964)

Szarfman, A.; Hassell, J. R.; Rohrbach, D. H.; Stanley, J. R.; Martin, G. R.: Components of Basement Membranes: Their Properties, Functions, and Alterations in Disease States
In: New Trends in Basement Membrane Research. (Kühn, Schöne and Timpl eds.) Raven Press, New York, 265 - 275 (1982)

Timpl, R.; Wick, G.; Gay, S.: Antibodies to distinct types of collagens and procollagens and their application in immunohistology
J. Immunol. Methods **18**: 165 - 182 (1977)

Timpl, R.; Wiedemann, H.; Van Delden, V.; Furthmayr, H.; Kühn, K.: A Network Model for the Organization of Type IV Collagen Molecules in Basement membranes
Eur. J. Biochem. **120**: 203 - 211 (1981)

Timpl, R.; Oberbäumer, I.; Furthmayr, H.; Kühn, K.: Macromolecular Organization of Type IV Collagen
In: New Trends in Basement Membrane Research. (Kühn, Schönbe and Timpl eds.) Raven Press, New York, 57 - 67 (1982 a)

Timpl, R.; Rohde, H.; Risteli, L.; Ott, U.; Robey, P. G.; Martin, G. R.: Laminin. Structural and contractile proteins
Meth. Enzym. **82** 831 - 838 (1982 b)

Timpl, R.: Antibodies to Collagens and Procollagens
Meth. Enzym. **82**: 472 - 498 (1982 c)

Timpl, R.; Dziadek, M.; Fujiware, S.; Nowack, H.; Wick, G.: Nidogen: a new, self-aggregating basement membrane protein
Eur. J. Biochem. **137**: 455 - 465 (1983)

Tyldesley, W. R.; Appleton, J.: Observations on the ultrasturcture of the epithelium in oral lichen planus
J. Oral Pathol. 2: 46 - 57 (1973)

Tyldesley, W. R.: Oral lichen planus
Brit. J. Oral Surg. 11: 187 - 206 (1974)

Vaes, G.: Macrophage secretory products and connective tissue remodeling: role of macrophage enzymes and of 'matrix regulatory monokines'
In: Developments in Cell Biology. (Dean, R. T. and Stahl, P. eds.)
Butterworths, London 1985

Von der Mark, H.; Aumailley, M.; Wick, G.; Fleischmajer, R.; Timpl, R.: Immunochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI
Eur. J. Biochem. 142: 493 - 502 (1984)

Vracko, R.: The Role of Basal Lamina in Maintenance of Orderly Tissue Structure
In: New Trends in Basement Membrane Research. (Kühn, Schöne and Timpl eds.)
Raven Press, New York, 1 - 7 (1982)

Wallraff, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen. 8. Auflage
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1972)

Weber, S.; Engel, J.; Wiedemann, H.; Glanville, R. W.; Timnpl, R.: Subunit structure and assembly of the globular domain of basement-membrane collagen type IV
Eur.J. Biochem. 139: 401 - 410 (1984)

Wick, G.; Baudner, S.; Herzog, F.: Immunfluoreszenz
Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn (1976)

Wilson, E.: On lichen planus
J. Cut. Med. Dis. Skin 3: 117 - 132 (1869)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. P. Reichart ganz herzlich für die Überlassung des Themas danken.

Mein Dank gilt aber auch Herrn Dr. J. Becker für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit, sowie Herrn Dr. D. Schuppan, Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin, der die Antikörper für diese Studie zur Verfügung stellte.

Lebenslauf

Am 18. Mai 1953 wurde ich als sechstes Kind des Dr. med. Kurt Böhm und seiner Frau Ruth Böhm, geb. Mayer in Backnang geboren.

Nach der Grundschulzeit von 1960 bis 1964 in Kemnat besuchte ich das Paracelsus Gymnasium und die Privatschule Merz in Stuttgart.
Im Juni 1975 bestand ich die Reifeprüfung.

Ab Oktober 1975 Ausbildung als Zahntechniker in Stuttgart.
Von März 1979 bis Juli 1980 Ableitung des Zivildienstes in der Kieferklinik des Katharinen-Hospitals Stuttgart.

Von Oktober 1980 bis September 1981 studierte ich an der Universität Münster/Westf. Zahnmedizin. Dieses Studium setzte ich an der Freien Universität Berlin fort.
Im April 1986 Approbation als Zahnarzt.

Seit Juli 1986 bin ich als Assistent in der Zahnarztpraxis J. Klappenberger in Berlin angestellt.

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☏ 3416451
Dissertationen

Berlin 1986